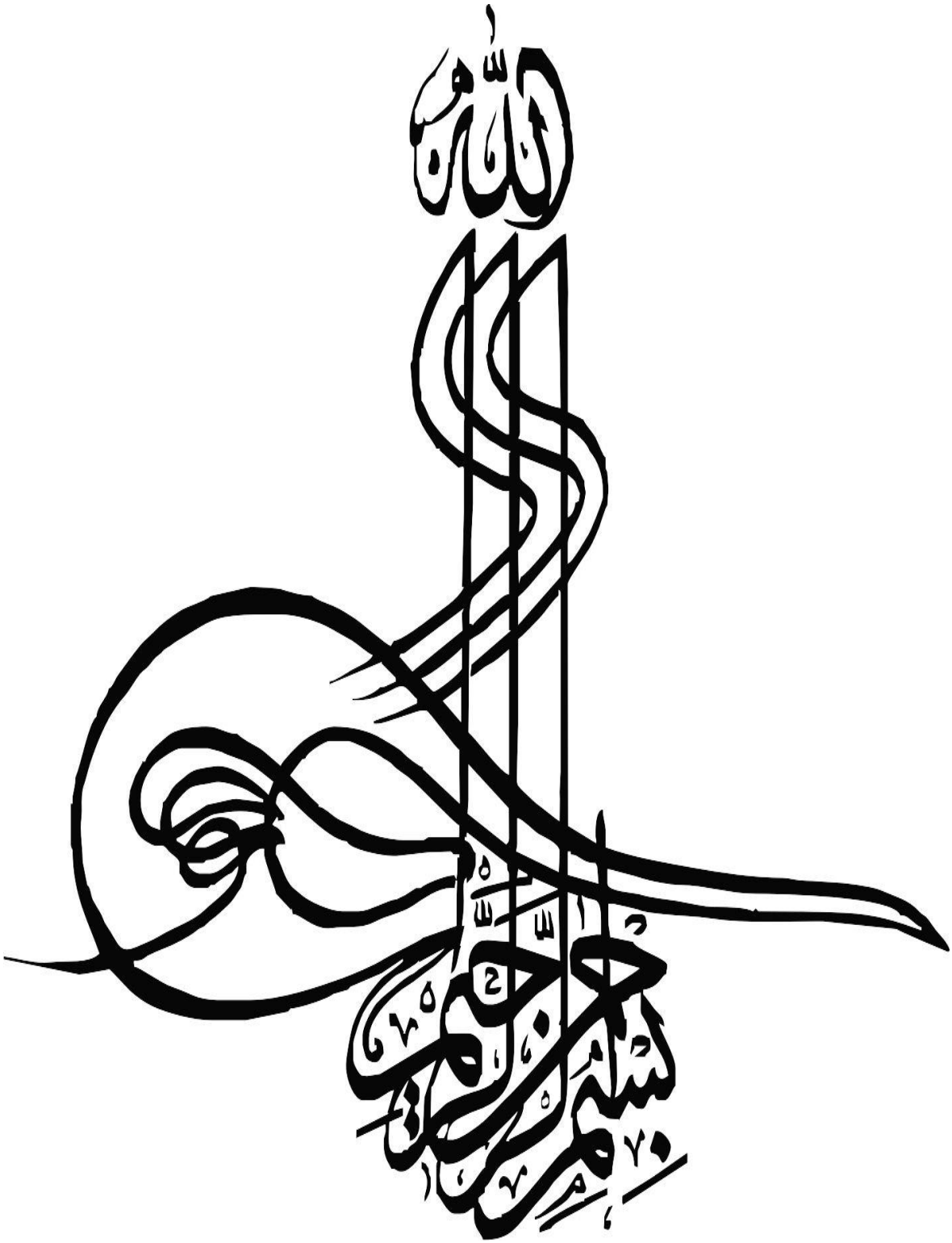
الله
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه کردستان
دانشکده منابع طبیعی
گروه جنگلداری

عنوان:

مطالعه تنوع ژنتیکی جوامع بلوط جنگل‌های زاگرس شمالی ایران

پژوهشگر:
لیلا علیخانی

استاید راهنما:
دکتر نقی شعبانیان
دکتر هدیه بدخشان

استاد مشاور:
مهندس محمدشفیع رحمانی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل

مهر ۱۳۹۲

کلیه حقوق مادی و معنوی مترتب بر نتایـج مطالعات،

ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع

این پایان‌نامه متعلق به دانشـگاه کردستان است.

تعهد نامه

اینجانب لیلا علی‌خانی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل دانشگاه کردستان، دانشکده منابع طبیعی گروه جنگلداری تعهد می‌نمایم که محتوای این پایان‌نامه نتیجه تلاش و تحقیقات خود بوده و از جایی کپی‌برداری نشده و به پایان رسانیدن آن نتیجه تلاش و مطالعات مستمر اینجانب و راهنمایی و مشاوره اساتید بوده است.

با تقدیم احترام

لیلا علی‌خانی

۱۳۹۲/۷/۲۸

دانشگاه کردستان
دانشکده منابع طبیعی
گروه جنگلداری

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل

عنوان:

مطالعه تنوع ژنتیکی جوامع بلوط جنگل‌های زاگرس شمالی ایران

دانشجو:
لیلا علی‌خانی

در تاریخ ۱۳۹۲/۷/۲۸ توسط کمیته تخصصی و هیأت داوران زیر مورد بررسی قرار گرفت و با نمره ۱۹/۹۲ و درجه عالی به تصویب رسید.

هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر نقی شعبانیان	استادیار	
۲- استاد راهنما	دکتر هدیه بدخشان	استادیار	
۳- استاد مشاور	مهندس محمدشفیع رحمانی	کارشناسی‌ارشا	
۴- استاد داور خارجی	دکتر قادر میرزاقادری	استادیار	
۵- استاد داور داخلی	دکتر زاهد شاکری	استادیار	

مدیر گروه	معاون آموزشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده
دکتر مهتاب پیرباوقار	دکتر بهرام قلی‌نژاد
مهر و امضاء	مهر و امضاء

تقدیم

به پدر و مادر عزیزم

آنان که وجودم برایشان همه رنج بوده و

وجودشان همه برایم مهر

توانشان رفت تا به توانایی برسم و مویشان سپید گشت تا رو سپید بمانم

در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می زنم و با دلی مملو از عشق، محبت و خضوع

بر دستشان بوسه می زنم.

تشکر و قدردانی

حمد و سپاس بی پایان خداوند متعال را که توفیق انجام این پژوهش را به من ارزانی داشت، بر خود لازم می دانم که مراتب تشکر و سپاس خود را از کلیه عزیزانی که در طول انجام این پایان نامه، از توجهات علمی و عملی آنان برخوردار بوده ام، ابراز داشته و از این همه منتی که بر من نهاده اند صمیمانه قدردانی نمایم.

از اساتید راهنمای گرامی جناب آقای دکتر تقی شعبانیان و سرکار خانم دکتر هدیه بدخشان و استاد مشاور محترم جناب آقای مهندس محمد شفیع رحمانی که انجام این تحقیق بدون راهنمایی های علمی و مساعدت همه جانبه ایشان میسر نبود، کمال تشکر و قدردانی را دارم. همچنین از اساتید محترم گروه جنگلداری سپاسگزاری می نمایم. از کارشناسان محترم آزمایشگاه آقایان مهندس قادری (شیلات) و مهندس گویلیان (محیط زیست) و سرکار خانم مهندس شهیدی (بیوتکنولوژی) تشکر می کنم.

از کلیه دوستان عزیزم خانم ها ناسو مرادی، لیلا عباسی، فروزان محمدی، هوا مدرس گرجی، فوزیه یک محمدی، ناهید محمودی، حمیده کریمی کیا، شهین ابراهیمی، سمیرا قوامی و مونا نصری، و آقایان خالد میرزایی، محمد صدیق کمانگر، سیامک غزالی، هیمن صالحی و بهزاد ظهیرنژاد و بقیه دوستانم که به هر نحوی اینجانب را در اجرای این تحقیق یاری نموده اند، بی نهایت سپاسگزارم.

چکیده

پایه‌ریزی استراتژی‌های مناسب مدیریتی حفاظت از ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی و همچنین بهره‌برداری صحیح از درختان نیازمند درک الگوی جغرافیایی تنوع ژنتیکی جوامع طبیعی آنهاست. در این مطالعه، با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناختی، و نشانگرهای مولکولی ISSR و IRAP تنوع ژنتیکی درون و بین‌جمعیتی ۱۲۵، ۱۵۰ و ۱۰۹ ژنوتیپ برگرفته از به ترتیب ۱۶، ۱۸ و ۱۵ جامعه طبیعی بلوط (*Quercus brantii*)، مازودار (*Q. infectoria*)، و وی‌ول (*Q. libani*) بخش شمالی جنگل‌های زاگرس (شهرستان‌های مریوان و بانه) مورد بررسی قرار گرفت. تجزیهٔ واریانس چندمتغیره صفات ریخت‌شناختی نشان داد که علاوه بر وجود تفاوت معنی‌دار درون‌جمعیتی، جمعیت‌ها از لحاظ این صفات نیز از تفاوت ژنتیکی معنی‌داری با هم برخوردار بودند. در هر سه گونه مورد مطالعه، صفات ریختاری طول پهنک در تبیین مولفه‌های اصلی و ایجاد واریانس بیشترین نقش را داشتند، به طوریکه در بلوط ۵۸/۱٪، در مازودار ۵۵/۱٪ و در وی‌ول ۶۹/۲٪ واریانس کل ناشی از این دو مشخصه بود. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) با استفاده از GenAlEx و تجزیه خوشه‌ای UPGMA نشان داد که در هر سه گونه مورد مطالعه تنوع ژنتیکی بین پایه‌های درون جمعیت‌ها، بیشتر از تنوع بین‌جمعیت‌هاست، به طوریکه ضریب تمایز بین‌جمعیتی (Gst) به دست آمده از نشانگر ISSR ۶۱/۸٪ از تنوع ژنتیکی کل برودار را به تنوع بین پایه‌های درون جمعیت‌ها و ۳۸/۲٪ آن را به تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها نسبت داد؛ به طور مشابه در مازودار ۶۱/۸٪ و ۳۸/۲٪ و در وی‌ول ۵۷/۵٪ و ۴۲/۴٪ تنوع ژنتیکی کل به تنوع ژنتیکی درون‌جمعیتی و بین‌جمعیتی تفکیک شد. همچنین، این ضریب در نشانگر IRAP آشکار ساخت که از تنوع ژنتیکی کل برودار، مازودار و وی‌ول به ترتیب ۵۹/۱٪، ۵۹/۱٪، و ۶۵/۷٪ مربوط به تنوع بین پایه‌های درون جمعیت‌هاست. بر اساس شاخص تنوع ژنتیکی نی، در برودار، مازودار و وی‌ول به ترتیب جوامع دست‌خورده گمارلنگ، دست‌خورده گمارلنگ، و دست‌خورده تاژان در مقایسه با سایر جوامع از تنوع ژنتیکی درون‌جمعیتی بیشتری برخوردارند. دندروگرام‌های UPGMA حاصل از هر یک از نشانگرها با هم مقایسه و آزمون ماتریکس مانتل برای بررسی همخوانی آنها استفاده شد. دندروگرام‌های بدست آمده از نشانگرهای ISSR، IRAP و ریخت‌شناختی در گونه‌های مورد مطالعه نشان داد که دسته‌بندی مبتنی بر داده‌های نشانگری جمعیت‌ها از همخوانی ضعیفی با فواصل جغرافیایی و دوری و نزدیکی آنها برخوردار است. با این وجود، دسته‌بندی ژنوتیپی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی (PCoA)، دندروگرام‌های بدست آمده از نشانگرها را در هر سه گونه تأیید کرد. علاوه بر این، تجزیهٔ خوشه‌ای داده‌های مولکولی و ریختاری بر اساس ضریب تشابه ژاکارد، گونه‌های مورد مطالعه را به خوبی از هم تفکیک کرد. این مطالعه نشان داد که بهره‌گیری از نشانگرهای ریخت‌شناختی در کنار استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌تواند به مطالعهٔ بهتر تنوع ژنتیکی وابسته به مکان بلوط‌ها، حفاظت از تنوع ژنتیکی، و شناسایی منشاء جغرافیایی گونه‌ها و ژنوتیپ‌های آنها کمک کند.

واژه‌های کلیدی: بلوط، نشانگر مولکولی، تجزیهٔ خوشه‌ای، تنوع، ریخت‌شناسی، ژنتیک جمعیت

فهرست مطالب

عنوان صفحه

مقدمه ۱

فصل اول: کلیات و بررسی منابع ٤

۱-۱ پراکنش،اکولوژی وریخت‌شناسی گونه‌های بلوط جنگل‌های غرب کشور ٤

۱-۲ حفاظت ازمنابع ژنتیکی ٥

۱-۱-۲ روش حفظ در محل ٦

۱-۲-۲ روش حفظ خارج از محل ٦

۱-۳ کاربرد نشانگرهای مولکولی در حفاظت ژنی ٦

۱-٤ دورگه‌گیری و اینتروگرسیون در جنس *Quercus* ۷

۱-٥ تنوع ژنتیکی و استفاده از نشانگرهای مولکولی در بررسی تنوع ژنی گونه‌های گیاهی ۸

۱-٦ نشانگرها ۸

۱-٦-۱ نشانگرهای مبتنی بر فنوتیپ ۹

۱-٦-٦ نشانگرهای مبتنی بر ژنوتیپ ۹

۱-۷ پیشینه مطالعه تنوع ژنتیکی در بلوط ۱٤

فصل دوم: مواد و روش‌ها ۱۷

مواد و روش‌ها ۱۷

۲-۱ مناطق مورد مطالعه ۱۷

۲-۲ اقلیم،آب و هوا و زمین‌شناسی مناطق مورد مطالعه ۱۸

۲-۳ جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی ۲۰

۲-٤ مطالعات ریخت‌شناختی ۲۱

۲-٥ مطالعه برخی خصوصیات خاک مناطق مورد مطالعه ۲۳

۲-٦ مطالعات مولکولی ۲۳

۲-٦-۱ استخراج DNA ۲۳

۲-٦-۲ تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ۲٥

۲-٦-۳ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۲٦

۲-٦-٤ آغازگرها ۲٦

۲-۷ امتیازدهی ژنوتیپ‌ها از نظر الگوهای نواری نشانگرها ۲۹

۲-۸ تجزیه و تحلیل داده‌ها ۲۹

۲-۸-۱ داده‌های ژنتیکی ۲۹

۲-۸-۲ داده‌های ریختاری ۳۰

۲-۸-۳ تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی ۲۹

فصل سوم: نتایج ۳۱

۳-۱ نتایج حاصل از استفاده از آغازگرهای ISSR در بررسی تنوع ژنتیکی *Q. brantii* ۳۳
۳-۲ نتایج حاصل از استفاده از نشانگر IRAP در بررسی تنوع ژنتیکی *Q. brantii* ۳۷
۳-۳ تجزیه داده‌های ژنتیکی آغازگرهای ISSR و IRAP در برودار ٤۲
۳-٤ تجزیه و تحلیل داده‌های ریختاری برودار ٤۳
۳-۵ بررسی مطابقت دسته‌بندی جمعیت‌های برودار بر اساس داده‌های ریختاری و مولکولی ۵۲
۳-٦ نتایج حاصل از استفاده از نشانگر ISSR در بررسی تنوع ژنتیکی مازودار ۵۲
۳-۷ نتایج حاصل از استفاده از نشانگر IRAP در بررسی تنوع ژنتیکی *Q. infectoria* ۵٦
۳-۸ تجزیه داده‌های ژنتیکی حاصل از کاربرد دو نشانگر ISSR و IRAP در مازودار ٦۰
۳-۹ تجزیه و تحلیل داده‌های ریختاری در مازودار ٦۲
۳-۱۰ بررسی مطابقت دسته‌بندی جمعیت‌ها بر اساس داده‌های ریختاری و مولکولی ٦۹
۳-۱۱ نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی *Q. libani* با استفاده از نشانگر ISSR ۷۰
۳-۱۲ نتایج حاصل ازبررسی تنوع ژنتیکی در گونه *Q. libani* با استفاده از نشانگر IRAP ۷٤
۳-۱۳ تجزیه داده‌های ژنتیکی حاصل از کاربرد دو نشانگر ISSR و IRAP در وی‌ول ۷۹
۳-۱٤ تجزیه و تحلیل داده‌های ریختاری وی‌ول ۸۰
۳-۱۵ بررسی مطابقت دسته‌بندی جمعیت‌ها بر اساس داده‌های ریختاری و مولکولی ۸۷
۳-۱٦ تجزیه داده‌های ژنتیکی حاصل از کاربرد نشانگر ISSR در سه گونه بلوط ۸۸
۳-۱۷ آنالیز داده‌های ژنتیکی حاصل از کاربرد نشانگر IRAP در سه گونه بلوط ۸۹
۳-۱۸ تنوع ریختاری بین گونه‌های مورد مطالعه ۹۰
فصل چهارم: بحث ۹۲
منابع ۹۸

فـهرست شکل‌هـا

عنـوان صفـحه

شکل ۲-۱ موقعیت جغرافیایی مناطق انتخابی سه گونه بلوط در این مطالعه ۱۸
شکل ۲-۲ منحنی آمبروترمیک (بارندگی- دما) منطقه مریوان ۱۹
شکل ۲-۳ منحنی آمبروترمیک (بارندگی - دما) منطقه بانه ۱۹
شکل ۲-٤ الکتروفورز DNA ژنومی استخراج شده از نمونه برگی برخی از ۲٦
شکل ۲-۵ الکتروفورز محصول PCR:الف) نمونه مازودار با استفاده از ۲۸
شکل ۲-٦ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی آغازگرهای ISSR با استفاده از ۳۵
شکل ۳-۲ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی آغازگرهای ISSR با استفاده از ۳٦
شکل ۳-۳ نمودار حاصل از تجزیه به مختصات اصلی ۱۲۵ ژنوتیپ *Q. brantii* با استفاده از ۳٦
شکل ۳-٤ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی آغازگرهای IRAP با استفاده از ۳۹
شکل ۳-۵ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی آغازگرهای IRAP با استفاده از ٤۰
شکل ۳-٦ تصویر تجزیه به مختصات اصلی ۱۲۵ ژنوتیپ برودار با استفاده از آغازگرهای IRAP ٤۱
شکل ۳-۷ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی آغازگرهای ISSR و IRAP با استفاده از ٤۳
شکل ۳-۸ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ریختاری با استفاده از الگوریتمUPGMA و بر اساس ۵۰
شکل ۳-۹ تجزیه به مولفه اصلی ۱۲۵ ژنوتیپ *Q. brantii* با استفاده از صفات ریختاری ۵۲
شکل ۳-۱۰ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی نشانگر ISSR با استفاده از ۵٤
شکل ۳-۱۱ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی نشانگر ISSR با استفاده از ۵۵
شکل ۳-۱۲ تجزیه به مختصات اصلی ۱۵۰ ژنوتیپ *Q. infectoria* با استفاده ازنشانگرISSR ۵۵
شکل ۳-۱۳ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی نشانگر IRAP با استفاده از ۵۸
شکل ۳-۱٤ دندروگرام جمعیت‌های *Q. infectoria* استفاده از الگوریتم UPGMA و بر اساس ۵۹
شکل ۳-۱۵ تجزیه به مختصات اصلی ۱۵۰ ژنوتیپ *Q. infectoria* با استفاده از نشانگر IRAP ٦۰
شکل ۳-۱٦ دندروگرام تجزیه داده‌های ژنتیکی نشانگر ISSR و IRAP با استفاده از ٦۱
شکل۳-۱۷ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ریختاری بر اساس ضریب فاصله اقلیدسی در *Q. infectoria* ٦۸
شکل ۳-۱۸ نمودار حاصل از تجزیه به مولفه اصلی ۱۵۰ ژنوتیپ *Q. infectoria* با استفاده از صفات ریختاری ۷۰
شکل ۳-۱۹ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی نشانگر ISSR با استفاده از ۷۱
شکل ۳-۲۰ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ژنتیکی نشانگر ISSR با استفاده از ۷۲
شکل ۳-۲۱ تجزیه به مختصات اصلی ۱۰۹ ژنوتیپ *Q. libani* بااستفاده از نشانگرISSR ۷۳
شکل ۳-۲۲ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌ها با استفاده از الگوریتم UPGMA و بر اساس ۷٦
شکل ۳-۲۳ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌ها با استفاده از الگوریتم UPGMA و بر اساس ۷۷
شکل ۳-۲٤ تجزیه به مختصات اصلی ۱۰۹ ژنوتیپ *Q. libani* بااستفاده از نشانگرIRAP ۷۷
شکل ۳-۲۵ دندروگرام حاصل ازتجزیه داده‌های دو نشانگر IRAP و ISSR با استفاده از ۷۹
شکل ۳-۲٦ دندروگرام جمعیت‌های *Q. libani* بر اساس ضریب فاصله اقلیدسی با استفاده از صفات ریختاری ۸٦

شکل ۳-۲۷ نمودار حاصل از تجزیه به مولفه اصلی ۱۰۹ ژنوتیپ *Q. libani* با استفاده ازصفات ریختاری..... ۸۶
شکل ۳-۲۸ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های نشانگر ISSR سه گونه بلوط با استفاده از..... ۸۸
شکل ۳-۲۹ تجزیه به مختصات اصلی ۳۸٤ نمونه سه گونه بلوط بااستفاده از نشانگر ISSR..... ۸۹
شکل ۳-۳۰ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های نشانگر IRAP با استفاده از..... ۹۰
شکل ۳-۳۱ تجزیه به مختصات اصلی ۳۸٤ ژنوتیپ سه گونه بلوط مورد مطالعه با استفاده از..... ۹۰
شکل ۳-۳۲ دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ریختاری با استفاده از الگوریتم UPGMA و بر اساس..... ۹۱

فـهرست جداول

عنـوان صفـحه

جدول ۱-۲ مشخصه‌های جغرافیایی جوامع بلوط انتخاب شده از..... ۱۸
جدول ۲-۲ تعداد ژنوتیپ‌های نمونه‌برداری شده در هر یک از گونه‌های بلوط مورد مطالعه..... ۲۱
جدول ۲-۳ صفات ریختاری اندازه‌گیری بافت‌های برگ و بذر گونه‌های بلوط این مطالعه..... ۲۲
جدول ۲-٤ برخی خصوصیات شیمیایی خاک جوامع نمونه‌برداری در این مطالعه..... ۲۵
جدول ۲-۵ اجزای مورد استفاده برای انجام واکنش PCR در این مطالعه..... ۲٦
جدول ۲-٦ چرخه حرارتی واکنش PCR برای نشانگرهای مورد استفاده..... ۲۷
جدول ۲-۷ مشخصات آغازگرهای بهینه شده از دو نشانگر ISSR و IRAP که در..... ۲۷
جدول ۲-۸ تعداد کل نوارهای تکثیر شده از هر آغازگر، تعداد نوارهای چند شکل در..... ۳۲
جدول ۳-۲ تجزیه و اریانس مولکولی برای تعیین بهترین نقطه برش دندروگرام..... ۳٤
جدول ۳-۳ تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از آغازگرهای ISSR در *Q. brantii*..... ۳۷
جدول ۳-٤ تجزیه واریانس مولکولی گونه *Q. brantii* در شهرستان‌های بانه و مریوان با استفاده از آغازگرهای ISSR..... ۳۷
جدول ۳-۵ تجزیه واریانس مولکولی برای تعیین بهترین نقطه برش دندروگرام..... ٤۰
جدول ۳-٦ تجزیه واریانس مولکولی در *Q. brantii* با استفاده از آغازگرهای IRAP..... ٤۱
جدول ۳-۷ تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های شهرستان‌های بانه و مریوان*Q. Brantii*با استفاده..... ٤۲
جدول ۳-۸ بیشینه، کمینه، میانگین و انحراف معیار صفات ریختاری اندازه‌گیری شده در برگ و بذر بروودار..... ٤٤
جدول ۳-۹ آزمون تجزیه واریانس چند متغیره بر اساس کل صفات ریختاری در جمعیت‌های گونه بلوط برودار..... ٤۸
جدول ۳-۱۰ تجزیه واریانس بر اساس طرح کاملا تصادفی برای هر یک از صفات ریختاری مورد مطالعه..... ٤۹
جدول ۳-۱۱ آزمون تجزیه واریانس چند متغیره بر اساس صفات ریختاری..... ۵۰
جدول ۳-۱۲ آزمون مانتل بین ماتریس‌های تشابه و فاصله حاصل از نشانگرهایISSR و IRAP..... ۵۲
جدول ۳-۱۳ تجزیه واریانس مولکولی برای تعیین نقطه برش دندروگرام..... ۵۳
جدول ۳-۱٤ ریشه مخفی صفات درمولفه اول تجزیه به مختصات اصلی صفات..... ۵۱
جدول ۳-۱۵ تجزیه واریانس مولکولی *Q. infectoria* با استفاده از نشانگر ISSR..... ۵٦
جدول ۳-۱٦ تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های بانه و مریوان *Q. Infectoria*..... ۵٦
جدول ۳-۱۷ تجزیه واریانس مولکولی برای تعیین بهترین نقطه برش دندروگرام..... ۵۹
جدول ۳-۱۸ تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از نشانگر IRAP در گونه *Q. infectoria*..... ٦۰
جدول ۳-۱۹ تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های بانه و مریوان*Q. Infectoria* با استفاده از نشانگر IRAP..... ٦۱
جدول ۳-۲۰ آزمون تجزیه واریانس چند متغیره بر اساس کل صفات ریختاری در جمعیت‌های گونه بلوط مازودار..... ٦۲
جدول ۳-۲۱ بیشینه، کمینه، میانگین و انحراف معیار صفات ریختاری اندازه‌گیری شده در مازودار..... ٦۳
جدول ۳-۲۲ تجزیه واریانس صفات ریختاری اندازه‌گیری شده در این مطالعه در مازودار..... ٦۷
جدول ۳-۲۳ تجزیه واریانس چندمتغیره کل صفات ریختاری جمعیت‌های مازودار جهت تأیید نقطه برش..... ٦۸
جدول ۳-۲٤ ریشه مخفی صفات در مولفه اول تجزیه به مختصات اصلی صفات ریختاری اندازه‌گیری..... ٦۹

جدول ۳–۲۵ آزمون مانتل بین ماتریس‌های تشابه و فاصله حاصل از..... ٦٩
جدول ۳–۲٦ تجزیه واریانس مولکولی برای تعیین بهترین نقطه برش دندروگرام..... ۷۱
جدول ۳–۲۷ تجزیه واریانس مولکولی داده‌های نشانگر ISSR در *Q. libani*..... ۷٤
جدول ۳–۲۸ تجزیه واریانس مولکولی شهرستان‌های بانه و مریوان *Q. libani* با استفاده از نشانگر ISSR..... ۷٤
جدول ۳–۲۹ تجزیه واریانس مولکولی برای تعیین بهترین نقطه برش دندروگرام..... ۷۵
جدول ۳–۳۰ تجزیه واریانس مولکولی *Q. libani* با استفاده از نشانگر ISSR..... ۷۸
جدول ۳–۳۱ تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های بانه و مریوان *Q. libani* با استفاده از..... ۷۸
جدول ۳–۳۳ آزمون تجزیه واریانس چندمتغیره بر اساس صفات ریختاری در جمعیت‌های وی‌ول..... ۸۰
جدول ۳–۳۲ بیشینه، کمینه، میانگین و انحراف معیار صفات ریختاری اندازه‌گیری شده در وی‌ول..... ۸۱
جدول ۳–۳٤ تجزیه واریانس مبتنی بر طرح کاملا تصادفی برای هر یک از..... ۸۵
جدول ۳–۳۵ آزمون تجزیه واریانس چند متغیره بر اساس کل صفات ریختاری در جمعیت‌های..... ۸٦
جدول ۳–۳٦ ریشه مخفی دو مولفه اول تجزیه به مختصات اصلی صفات..... ۸۷
جدول ۳–۳۷ آزمون مانتل بین ماتریس‌های تشابه و فاصله حاصل از..... ۸۷
جدول ۳–۳۸ تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از نشانگر ISSR در سه گونه بلوط..... ۸۹
جدول ۳–۳۹ تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از نشانگر IRAP در سه گونه بلوط..... ۹۱

مقدمه

جنگل‌ها سرمایه‌های ملی هر کشور محسوب می‌شوند که حفاظت و بهره‌برداری صحیح از آنها علاوه بر ثروت‌آفرینی، بقای محیط زیست را نیز تضمین می‌نماید. بر اساس برآورد سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد(فائو)[۱] از ٤ میلیارد هکتار سطح جنگل‌های جهان، ۱/۲ میلیارد هکتار برای تأمین چوب صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (فائو، ۲۰۰۹). بر اساس تقسیم‌بندی جنگل‌های ایران به لحاظ وسعت، جنگل‌های زاگرس بعد از جنگل‌های شمال قرار می‌گیرند. مساحت جنگل‌های زاگرس در گذشته بیش از ۱۰ میلیون هکتار بوده است، در حالی که مساحت فعلی جنگل‌های مذکور در حدود ۵ میلیون هکتار برآورد شده است. گونه غالب این جنگل‌ها *Quercus brantii* است، که همراه با آن گونه‌های دیگری از بلوط نیز حضور دارند (مروی‌مهاجر، ۱۳۸۵). جنگل‌های زاگرس در اثر عوامل زیادی همچون رشد جمعیت، نیاز به زمین برای کشاورزی، بهره‌برداری از جنگل توسط ساکنان آن و افزایش تقاضای چوب برای مصارف ساختمانی و سوخت در حال تخریب هستند (غضنفری و همکاران[۲]، ۲۰۰٤).

انسان از زمانیکه اکوسیستم‌های جنگلی را مورد بهره‌برداری قرار داد با گذشت زمان به صورت عمدی یا غیرعمدی ذخیره‌گاه‌های ژنی گونه‌های درختان جنگلی را نیز تغییر داده است. در این میان فقط اکوسیستم-هایی که تنوع ژنتیکی[۳] پویایی دارند باقیمانده‌اند (بویل[٤]، ۲۰۰۰؛ بوی و همکاران[٥]، ۲۰۰۰). تا چند دهه اخیر، اهمیت وجود تنوع ژنتیکی در یک گونه تا حد زیادی نادیده گرفته می‌شد (کونر و همکاران[٦]، ۲۰۰٤). با این حال، امروزه این واقعیت که مدیریت موثر جنگل نیازمند آگاهی مدیران جنگل از تنوع ژنتیکی جوامع تحت مدیریت آنها است، بر کسی پوشیده نیست (همریک و همکاران[۷]، ۲۰۰٤)، چرا که مدیریت ناآگاهانه ممکن است منجر به افزایش حضور گونه‌های غیربومی شود که این امر باعث تغییر روابط رقابتی و ورود مواد ژنتیکی جدید برخوردار از سازگاری ضعیف‌تر با شرایط منطقه می‌شود (آناگنوستاکیس[۸]، ۱۹۸۷؛ اسچیلینگ و همکاران[۹]، ۱۹۹۹؛ آدامز[۱۰]، ۱۹۹۸؛ لیندن‌مایر و همکاران[۱۱]، ۲۰۰۲؛ واورا و همکاران[۱۲]، ۲۰۰۷؛ اسچابرگ و همکاران[۱۳]، ۲۰۰۸). تهاجم گونه‌های غیربومی، تکه‌شدگی[۱] جوامع و تغییرات آب و هوایی از عوامل شایع در

---

[۱] Food and Agriculture Organization (FAO)

[۲] Ghazanfari et al.

[۳] Genetic diversity

[٤] Boyle

[٥] Booy et al.

[٦] Conner et al.

[۷] Hamric et al.

[۸] Anagostakis

[۹] Schilling et al.

[۱۰] Adms et al.

[۱۱] Lindenmayer et al.

[۱۲] Vavra et al.

[۱۳] Schaberg et al.

ایجاد تغییر در زیستگاه‌ها هستند (اسچابرگ و همکاران، ۲۰۰۸). تغییر زیستگاه، تعادل سیستم‌های پرورشی را مختل و منجر به کاهش تنوع ژنتیکی در انواعی از گونه‌ها (از جمله درختان بادگرده‌افشان) می‌شود (استانتون و همکاران[۲]، ۲۰۰۹).با توجه به روند سریع تخریب و نابودی جنگل‌ها، باید تحولی اساسی در مدیریت جنگل کشور صورت گیرد و با اندیشه‌ای نو مبتنی بر اصول توسعه پایدار، برای حفاظت اصولی از غنای ژنتیکی[۳] گیاهی گام موثر برداشته شود.

تا اواخر دهه ۷۰ میلادی نشانگرهای ریختاری[۴] و آیزوزایمی از جمله ابزارهای اصلی در مطالعات ژنتیکی بودند، در سال ۱۹۸۰ این ایده مطرح شد که می‌توان نشانگرهای ژنتیکی متعددی را از طریق مطالعه تفاوت افراد در ماده وراثتی DNA بدست آورد (باقری و همکاران، ۱۳۸٦). نشانگرهای مولکولی[۵] به منظور پی بردن به تفاوت در ویژگی‌های ژنوتیپی و فنوتیپی بین افراد، جوامع، پروونانس‌ها و گونه‌ها و برای مشخص کردن روابط تکاملی نژادی و فواصل ژنتیکی بین آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند. این نوع نشانگرها با صفات فنوتیپی متعددی همچون رشد، عملکرد و سازگاری با محیط ارتباط تنگاتنگی دارند و به مطالعه تنوع ژنتیکی و اجرای برنامه‌های پرورش و گزینش درختان نخبه[٦] کمک می‌کنند (آبریل و همکاران[۷]، ۲۰۱۱). به طور کلی می‌توان گفت که به منظور حفظ بقا و استمرار توان تکاملی جوامع درختی، در مدیریت جنگل باید جنبه‌های ژنتیکی نیز در نظر گرفته شوند. تنوع ژنتیکی یکی از مولفه‌های بنیادین سلامت جنگل است، به طوری که هر چه تنوع ژنتیکی یک جمعیت بیشتر باشد مقاومت آن جمعیت در برابر تنش‌های محیطی نیز بیشتر خواهد بود (اسچابرگ و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به این مهم، هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف بلوط جنگل‌های زاگرس شمالی با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR[۸] (توالی‌های تکراری ساده میانی) و IRAP[۹] (چندشکلی در تکثیر در نواحی بین رتروترانسپوزون‌ها) و نشانگرهای ریخت‌شناختی بود.

ضرورت تحقیق

در جهان امروز، منابع ژنتیکی بسیاری از گونه‌های گیاهی و جانوری آسیب دیده است و درختان جنگلی از این تهدید ایمن نیستند. بیش از ۷۳۰۰ گونه با تعداد بسیار بیشتری زیرگونه، واریته و اکوتیپ درختی در جهان در معرض و یا تهدید انقراض هستند. از بین رفتن زیستگاه و جنگل‌زدایی[۱۰] از مخرب‌ترین تهدیدات ذخایر ژنتیکی جنگل‌ها به شمار می‌آیند (وایت و همکاران[۱۱]، ۲۰۰۷). این عوامل حاصل فعالیت‌هایی همچون توسعه مناطق شهری، تبدیل جنگل‌ها به اراضی کشاورزی و مرتعی، چرای دام، برداشت بیش از حد چوب برای

---

۱ Fragmentation

۲ Stanton et al.

۳ Genetic richness

4 Morphological markers

5 Molecular marker

6 Elite trees

۷ Abril et al.

8 Inter Simple Sequence Repeats(ISSR)

9 Inter- Retrotransposon Amplified Polymorphism(IRAP)

۱۰ Deforestaion

۱۱ White et al.

مصارف صنعتی و یا سوختی، تخریب طبیعی و مدیریت ضعیف جنگل‌هاست (وایت و همکاران، ۲۰۰۷؛ اسچابرگ و همکاران، ۲۰۰۸).

جنگل‌ها منابع با ارزش متعددی همچون مصالح ساختمانی، تولیدات کاغذی، چوب و سوخت را برای انسان تأمین می‌کنند (نیل و همکاران[۱]، ۲۰۱۱). تحقیقات ژنتیکی ابزاری کارآمد و موثر برای حفاظت، کمک به تجدید حیات و مدیریت جوامع طبیعی درختان جنگلی به شمار می‌آیند. عواملی همچون طولانی بودن مدت زمان بذردهی، بزرگ بودن ژنوم، عدم تشخیص درست جهش‌ها در درختان و بالا بودن هزینه پژوهش‌های مربوطه از موانع پیشرفت تحقیقات مذکور در گونه‌های جنگلی هستند (نیل و همکاران، ۲۰۱۱). با این وجود بیش از دو دهه است که در ژنتیک درختان جنگلی پیشرفت‌های چشمگیری حاصل شده است. در حقیقت، نتایج حاصل از تحقیقات ژنتیکی در درختان جنگلی برای دستیابی به اهدافی همچون پی بردن به چگونگی تکامل یک گونه در گذشته و همچنین درک پاسخ درختان به تغییرات محیطی در آینده لازمند. همچنین این نتایج را می‌توان در راستای سرعت بخشیدن به زادآوری جوامع جنگلی به کار گرفت (نیل و همکاران، ۲۰۱۱). به طور کلی مطالعه ژنتیک جنگل با هدف درک بهتر تکامل گونه‌های جنگلی، کمک به اجرای صحیح برنامه‌های حفاظتی، مدیریتی و کمک به پایداری اکوسیستم‌های جنگلی هدایت و اجرا می‌شوند (وایت و همکاران، ۲۰۰۷).

[۱] Nealeet al.

فصل اول

کلیات و بررسی منابع

۱-۱ پراکنش، اکولوژی و ریخت‌شناسی گونه‌های بلوط جنگل‌های غرب کشور

خانواده Fagaceae جزو خانواده‌های غالب جنگل‌های معتدله در نیمکره شمالی است و در جنوب شرقی آسیا از بیشترین تنوع برخوردار است (مانوس و همکاران[۱]، ۲۰۰۱). در سرتاسر جهان این خانواده ۱۲-۷ جنس و ۱۰۰۰-۶۰۰ گونه دارد (اسکوگان[۲]، ۱۹۷۸؛ مابرلی[۳]، ۱۹۹۷؛ چنگجیو و همکاران[۴]، ۱۹۹۹). بلوط، گیاهی از خانواده Fagaceae و جنس *Quercus* است (ثابتی، ۱۳۸۲). تعداد گونه‌های بلوط در حدود ۳۰۰-۲۰۰ گونه گزارش شده است (کوتی و همکاران[۵]، ۲۰۰۸). بلوط گونه‌ای دیپلویید (۲n= ۲x= ۲٤) است که در مناطق معتدله نیمکره شمالی و ارتفاعات بالاتر نیمکره جنوبی پراکنش گسترده‌ای دارد (آبریل و همکاران، ۲۰۱۱). جنس بلوط در طول دوره زندگی طولانی‌اش (۲۰۰ سال یا بیشتر) خود را با شرایط محیطی ناهمگون سازگار می‌کند، بنابراین تنوع ژنتیکی برای تداوم حیات این گونه نقشی تعیین کننده دارد تا بتواند در محیط-های متفاوت زمانی و مکانی زنده بماند (مولر و همکاران[۶]، ۱۹۹۱).

سه گونه مختلف بلوط یعنی برودار، مازودار و وی‌ول در جنگل‌های زاگرس شمالی از لحاظ گسترش افقی و عمودی با همدیگر متفاوتند. در پاراگراف‌های زیر مختصری درباره نیازهای ادافوکلیماتیکی[۷] و پراکنش آنها آمده است:

---

[۱] Manos et al.

[۲] Scoggan

[۳] Mabberley

[۴] Chengiiu et al.

[۵] Cotti et al

[۶] Moller et al.

[۷] Edaphoclimatic

-برودار (*Quercus brantii*): این گونه در زاگرس بدون محدودیت جغرافیایی، اغلب در همه نقاط پراکنده است و با توجه به بردباری خاصی که در برابر شرایط سخت محیطی از خود نشان می‌دهد، از گسترش خوبی برخوردار است. حضور آن در اقلیم‌های مرطوب، نیمه‌مرطوب تا نیمه‌خشک و خشک، رشد در انواع خاک-های منطقه و گسترش عمودی و افقی آن از بردباری، پایداری و استقامت بی‌نظیر این گونه مهم در تمام جهات جغرافیایی حکایت می‌کند (فتاحی، ۱۳۷۸). درختان این گونه، بزرگ و مرتفع هستند. ارتفاع متوسط آنها در جنگل‌های حوزه رویشی زاگرس به حدود ۸ متر می‌رسد. برگ‌های آن معمولا یکنواخت و تخم‌مرغی شکل با حاشیه‌ای دندانه‌دار هستند، کرک‌های ستاره‌ای شکل و انبوه روی برگ و کرک‌های نرم و خزی زرد رنگ پشت آن را فرا گرفته است (جزیره‌ای و همکاران، ۱۳۸۲).

-مازودار (*Quercus infectoria*): مازودار در جنگل‌های زاگرس به نسبت برودار از گسترش افقی کمتری برخوردار است، زیرا به نسبت در برابر عوامل خاکی و اقلیمی واکنش نشان می‌دهد و در نتیجه از بردباری و گسترش کمتری برخوردار است. گسترش افقی آن از شهرستان پیرانشهر تا جنوب شهرستان مریوان به طور پیوسته و بعد تا شمال خرم‌آباد به صورت منقطع ادامه می‌یابد و از آن به بعد اثری از این گونه دیده نمی‌شود. به لحاظ گسترش عمودی این گونه مناطق میان‌بند را ترجیح می‌دهد (فتاحی، ۱۳۷۸). مازودار درختی است به ارتفاع ٦ متر یا بیشتر، پوست تنه آن خاکستری و ترک‌خورده و سطح فوقانی برگ‌ها صاف و براق و پشت آنها کرکدار است (جزیره‌ای و همکاران، ۱۳۸۲).

-وی‌ول (*Quercus libani*): این گونه در زاگرس به نسبت دو گونه ذکر شده دیگر به عوامل جوی و خاکی حساس‌تر و از محدودیت بیشتری برخوردار است. در دو استان آذربایجان غربی و کردستان دارای گسترش افقی است و به حوزه شهرستان مریوان ختم می‌شود، ولی از لحاظ گسترش عمودی ارتفاعات فوقانی را که دارای خاک‌های حاصلخیزتر و مرطوب‌تر هستند، ترجیح می‌دهد (فتاحی، ۱۳۷۸). وی‌ول درختی به ارتفاع ۱۰ تا ۱۲ متر با پوست خاکستری تیره و شکاف‌دار بوده و شاخه‌های جوان و اولیه آن دارای کرک‌های ظریف است که بعد از مدتی کرک‌های خود را از دست می‌دهد. برگ‌ها مستطیلی تا تخم‌مرغی یا سرنیزه‌ای هستند، قاعده برگ‌ها گرد یا قلبی شکل و طول برگ‌ها به ٦ تا ۱۰ و در برخی موارد تا ۱۵ سانتی-متر می‌رسد. سطح رویی برگ فاقد کرک و سطح زیرین آن کرک‌دار و در بعضی مواقع فاقد کرک می‌باشد. برگ‌ها دندانه‌دار و دندانه‌ها کوتاه و نوک باریک‌اند (جزیره‌ای و همکاران، ۱۳۸۲).

۱-۲ حفاظت از منابع ژنتیکی

حفاظت ژنی[۱]، که طبق تعریف کلیه فعالیت‌ها و اقدامات مختلف سیاستی و مدیریتی گونه‌ها را جهت حفظ تنوع ژنتیکی موجود در بر می‌گیرد، یکی از مولفه‌های اصلی جنگلداری پایدار[۲] است (فائو، ۲۰۰۱). حفظ

[۱] Gene conservation

[۲] Sustainable forestry

تنوع ژنتیکی برای جوامع انسانی با منافع متعدد اکولوژیکی، اقتصادی، اجتماعی و زیبایی‌شناختی همراه است (سول[۱]، ۱۹۸٦؛ تربورگ[۲]، ۱۹۸٦). با توجه به اینکه شمار و شدت عوامل از بین برنده تنوع ژنتیکی (عوامل بیماری‌زا، جنگل‌زدایی، ورود گونه‌های خارجی، آلودگی و تغییرات اقلیمی) در جنگل‌های بسیاری از بخش‌های جهان در حال افزایش است، جامعه جهانی ملزم است تا تنوع زیستی را در تمامی سطوح از جمله در سطح درون‌گونه‌ای حفظ کند (کانوسکی[۳]، ۲۰۰۰). روش حفظ *در محل*[٤] و روش حفظ در *خارج از محل*[٥] دو رویکرد اصلی و مهم حفاظت از تنوع ژنتیکی روش‌ها هستند.

۱-۲-۱ روش حفظ *در محل*

روش‌های حفظ *در محل* معمولا بر مدیریت جنگل‌های بومی به عنوان ذخایر طبیعی تأکید می‌کنند. این روش‌ها بر ایجاد مناطق، حفاظت شده در جنگل‌ها همچون مناطق بکر، ذخیره‌گاه‌ها و پارک‌ها به منظور حفظ جوامع در حال رشد در مبدأ پیدایش آنها مبتنی هستند. مزیت حفاظت ژنی در محل این است که با این رویکرد می‌توان تعداد زیادی گونه و پایه در هر گونه را با هزینه نسبتا کمی محافظت کرد (وایت و همکاران، ۲۰۰۷).

۱-۲-۲ روش حفظ در *خارج از محل*

در روش حفاظت ژنی *خارج از محل*، از جوامع طبیعی یک گونه بر اساس یک برنامه منسجم نمونه‌برداری و ژرم‌پلاسم (بذر، دانه گرده و یا بافت رویشی) در شرایط سرد در بانک‌های ژنی[٦] نگهداری می‌شوند.
روش‌های *خارج از محل* روش‌های اصلی حفاظت ژنی در کشاورزی هستند، اما در درختان جنگلی از این روش‌ها معمولا هنگامی که جوامع طبیعی در معرض خطر باشند و یا هنگامی که نتوان از آنها به طور کافی و بایسته حفاظت کرد و یا در مواقعی‌که گونه مورد نظر از طریق برنامه‌های اصلاحی اهلی شده باشد، استفاده می‌شوند (کاننبرگ[۷]، ۱۹۸۳).

۱-۳ کاربرد نشانگرهای مولکولی در حفاظت ژنی

نشانگرهای ژنتیکی در بسیاری از مطالعات ژنتیکی درختان جنگلی کاربرد دارند. از نشانگرهای ژنتیکی در جوامع جنگلی اغلب برای تعیین میزان و الگوی تنوع ژنتیکی استفاده می‌شود (وایت و همکاران، ۲۰۰۷). علاوه بر این، از نشانگرهای ژنتیکی برای ترسیم نقشه‌های ژنتیکی[۸] نیز استفاده می‌شود. به طور کلی ارزیابی

---

۱ Soule
۲ Terborgh
۳ Kanowski
٤ *In situ* conservation
٥ *Ex situ*
٦ Gene bank
۷ Kannenberg
۸ Genetic mapping