

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه مازندران  
دانشکده علوم پایه - گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی علوم گیاهی  
(سیستماتیک - اکولوژی)

موضوع:

بررسی تنوع ژنتیکی *Populus caspica* و *Populus alba* در  
مناطق غرب جنگل های هیرکانی ایران با استفاده از مارکر  
*trnL-F* مولکولی

اساتید راهنما:

دکتر آرمان محمودی اطاقوری

دکتر اباصلت حسین زاده کلاگر

دانشجو

مریم بادبر

شهریور/۱۳۹۱

بابلسر/ ایران

«من لم يشكر المخلوق لم يشكر الخالق»

با تقدیر و تشکر شایسته از اساتید فرهیخته و فرزانه جناب آقای دکتر اباصلت حسین زاده کلاگر و دکتر آرمان محمودی اطاقوری که با نکته های دلاویز و گفته های بلند، صحیفه های سخن را علم پرور نمودند و همواره راهنما و راه گشای نگارنده در اتمام و اكمال پایان نامه بوده اند.

همچنین از پدر و مادر دلسوز و مهربانم و همسر عزیزم که آرامش روحی و آسایش فکری را فراهم نمودند تا با حمایت های همه جانبه در محیطی مطلوب، مراتب تحصیلی و نیز پایان نامه درسی را به نحو احسن به اتمام برسانم سپاسگزاری می نمایم.

#### با تقدیر و تشکر از

مدیریت محترم گروه زیست شناسی و سلولی، جناب آقای دکتر نقی نژاد و آقای دکتر محسنی

دکتر حامد یوسف زاده به خاطر زحمات بی دریغ شان

خانم امینی و دکتر زارع، مسوول باغ گیاهشناسی نوشهر

مسوولین مرکز تحقیقاتی صنوبر صفرابسته

با سپاس فراوان از دوستان عزیزم خانم ها مریم زارعی، مریم قلی نژاد به خاطر کمک های

بی دریغ شان

## چکیده

سفیدپلت، بومی جنگل های هیرکانی شمال ایران است، که شباهت ریختی بسیاری با سپیدار دارد. هدف این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی *Populus alba* و *Populus caspica* در مناطق غرب جنگل های هیرکانی با استفاده از نشانگر مولکولی *trnL-F* است. برای این منظور ۱۲ نمونه برگگی شامل ۱۰ نمونه سفیدپلت و ۲ نمونه سپیدار از ۵ رویشگاه مختلف جمع آوری شدند. DNA ژنومی از برگ نمونه ها با استفاده از CTAB و SDS-پتاسیم استات استخراج گردید. محصولات *Pfu-PCR* از قطعه *trnL-F* تکثیر شده توالی یابی شدند. نتایج نشان داد که تعداد نوکلئوتید های منطقه *trnL-F* تقریباً برای جمعیت های هر دو گونه در حدود ۳۹۲ الی ۳۹۴ نوکلئوتید بود. در بررسی حضور انواع نوکلئوتیدها، مقدار نوکلئوتید آدنین در سفیدپلت و سپیدار بیش تر و در نمونه های بانک ژن، نوکلئوتید تیمین بیش تر در ترکیب نوکلئوتیدی آن ها مشاهده گردید که تا حدی نشان دهنده تشابه حضور نوکلئوتیدی سفیدپلت و سپیدار است. پس از ردیف سازی توالی های هر دو گونه، ترسیم درخت فیلوژنی بر اساس نشانگر *trnL-F* انجام گرفت، نتایج نشان داد اگر چه این دو گونه با داشتن تفاوت های کم مورفولوژیکی دارای تفاوت کمی نیز در منطقه غیر کد کننده کلروپلاستی *trnL-F* شان هستند ولی این نشانگر کلروپلاستی تفاوت قابل ملاحظه ای را بر اساس مقادیر و درصد حضور نوکلئوتیدها و میزان جهش های منطقه *trnL-F* در میان این دو گونه نشان نمی دهد. در این مطالعه تک نیایی بودن سفیدپلت و سپیدار معین گردید و هم چنین مشخص شد که صنوبر بومی جنگل های هیرکانی، سفیدپلت، به بخش پوپولوس متعلق بوده و از میان گونه های موجود در این بخش، این گونه بیشترین قرابت ژنتیکی را با سپیدار دارد. اما در بین نمونه های مورد بررسی، دو نمونه SC1 و RH2، با قرار گرفتن در گروهی مجزا، دارای الگوی نوکلئوتیدی متفاوت تر و فاصله ژنتیکی بیش تری با گونه سپیدار و سایر سفید پلت ها بودند، که این امر می تواند در نتیجه هیبریداسیون وسیع و درون گونه ای بین صنوبرها باشد که به عنوان یکی از عوامل مهم و مشکل آفرین در شناسایی دقیق بین صنوبرها مطرح می باشد. از این رو به منظور تفکیک تاکسونومیکی بین این دو گونه انجام مطالعات بیش تر با نشانگر های هسته ای و یا کلروپلاستی پیشنهاد می گردد.

**واژه های کلیدی:** تنوع ژنتیکی، نشانگر مولکولی *trnL-F*، سفیدپلت، سپیدار.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	خلاصه فارسی
ب	فهرست مطالب
۵	فهرست شکل ها
و	فهرست جدول ها
ز	فهرست علائم و اختصارات
۲	<b>فصل اول: مقدمه</b>
۷	<b>فصل دوم: تئوری</b>
۷	۱-۲- رده بندی جنس صنوبر
۱۰	۲-۲- پراکنش جغرافیایی صنوبر
۱۰	۳-۲- شرایط اکولوژیک رشد صنوبر
۱۱	۲-۳-۱- اهمیت اکولوژیک و اقتصادی درختان صنوبر
۱۱	۲-۴- رشد صنوبر و رقابت بین درختان جنگلی
۱۲	۲-۵- تولید مثل صنوبر
۱۳	۲-۵-۱- شرایط وراثتی صنوبر
۱۳	۲-۶- تاریخ تکاملی و صنوبر
۱۳	۲-۷- موارد مصرف صنوبر
۱۴	۲-۷-۱- صنوبر مدلی مناسب برای بررسی زیستی سایر درختان جنگلی
۱۵	۲-۷-۲- دلایل ارزشمند بودن صنوبر
۱۶	۲-۸- سفیدپلت
۱۷	۲-۸-۱- مورفولوژی سفیدپلت
۱۷	۲-۸-۲- پراکنش و شرایط اکولوژیکی سفیدپلت
۱۸	۲-۹- سپیدار
۱۸	۲-۹-۱- مورفولوژی سپیدار
۲۰	۲-۹-۲- پراکنش و شرایط اکولوژیکی سپیدار
۲۱	۲-۱۰- فیلوژنی
۲۲	۲-۱۱- روش های شناسایی گیاهان
۲۲	۲-۱۱-۱- نشانگرهای ریخت شناسی و آناتومیک

۲۳	۲-۱۱-۲- نشانگرهای مولکولی
۲۴	۲-۱۲-۲- ساختار ژنوم کلروپلاستی (cpDNA)
۲۵	۲-۱۲-۲-۱- مناطق غیر کد کننده DNA کلروپلاستی
۲۷	۲-۱۲-۲-۲- بررسی پتانسیل اطلاعاتی PIC لوکوس های کلروپلاستی
۳۰	۲-۱۲-۳- معرفی نشانگر <i>trnL-F</i>
۳۳	۲-۱۴- مزایای استفاده از cpDNA
۳۴	۲-۱۵- معایب استفاده از cpDNA
۳۵	۲-۱۶- نشانگر DNA کلروپلاستی (cpDNA) و مطالعه های فیلوژنی
۳۵	۲-۱۷- مطالعه های انجام شده با نشانگر <i>trnL-F</i>
۳۹	۲-۱۸- مطالعه های انجام شده با نشانگر های مولکولی بر روی صنوبر
۴۶	<b>فصل سوم: مواد و روش ها</b>
۴۶	۳-۱- مواد، وسایل و نمونه
۴۶	۳-۱-۱- مواد
۴۷	۳-۱-۲- وسایل
۴۷	۳-۱-۳- تهیه نمونه
۴۹	۳-۲- محلول ها و بافرهای لازم برای مطالعات مولکولی در سطح DNA
۴۹	۳-۲-۱- محلول CTAB ۱۰٪
۴۹	۳-۲-۲- محلول تریس ۱M
۵۰	۳-۲-۳- محلول SDS ۱۰٪
۵۰	۳-۲-۴- محلول EDTA ۰/۵ M
۵۰	۳-۲-۵- محلول فنل آبدهی شده
۵۱	۳-۲-۶- محلول فنل-کلروفرم-ایزو آمیل الکل
۵۱	۳-۲-۷- بافر استخراج
۵۱	۳-۲-۸- بافر TE
۵۱	۳-۲-۹- بافر TBE
۵۱	۳-۲-۱۰- بافر نمونه DNA
۵۲	۳-۳- استخراج DNA ژنومی
۵۳	۳-۴- بررسی کیفیت DNA
۵۴	۳-۵- بررسی کمیت DNA
۵۵	۳-۶- طراحی پرایمر
۵۵	۳-۶-۱- طراحی پرایمر برای مطالعه <i>trnL-F</i>
۵۶	۳-۷- واکنش زنجیره ای پلی مرز
۵۶	۱- واسرشته شدن ابتدایی قطعات DNA
۵۷	۲- مرحله واسرشتگی

۵۷	۳- مرحله اتصال پرایمرها
۵۷	۴- مرحله طولیل شدن پرایمرها
۵۹	۵- مرحله طولیل شدن نهایی
۵۹	۳-۷-۱- مواد لازم جهت انجام PCR
۶۱	۳-۷-۲- برنامه PCR اختصاصی جهت تکثیر قطعه <i>trnL-F</i>
۶۲	۳-۸-۱- الکتروفورز ژل آگارز افقی
۶۴	۳-۸-۱- محلول ها و بافرهای مورد نیاز برای الکتروفورز
۶۴	۳-۸-۲- محلول آگارز, ۱% w/v
۶۴	۳-۸-۳- محلول اتیدیوم بروماید, ۱۰ mg/ml
۶۴	۳-۸-۴- محلول برموفنل بلو ۰/۴ % w/v
۶۴	۳-۹- توالی یابی
۶۵	۳-۱۰- استریل نمودن
۶۵	۳-۱۱- آنالیز آماری داده ها
۶۵	۳-۱۱-۱- تجزیه و تحلیل نتایج مولکولی
۶۶	۳-۱۱-۲- نرم افزارها
۶۸	<b>فصل چهارم: نتایج و بحث</b>
۶۸	۴-۱- تنوع فیلوژنتیکی جنس سفیدپلت و سپیدار با استفاده از نشانگر <i>trnL-F</i>
۶۸	۴-۱-۱- تکثیر قطعه <i>trnL-F</i> با استفاده از PCR و تایید آن
۶۹	۴-۱-۲- توالی یابی
۷۰	۴-۱-۳- مشخصات قطعات <i>trnL-F</i> در صنوبر با استفاده از آنالیز تعیین توالی
۷۱	۴-۱-۳-۴- نتایج ترکیب و درصد نوکلئوتیدها تشکیل دهنده قطعه <i>trnL-F</i>
۷۲	۴-۱-۵- نتایج تخمین الگوی جابجایی و جهش های نوکلئوتیدی فاصله ژنتیکی نمونه ها
۷۵	۴-۱-۶- ترسیم درخت فیلوژنی منطقه <i>trnL-F</i>
۷۸	۴-۲- بررسی تنوع ژنتیکی سفیدپلت و سپیدار با نشانگر <i>trnL-F</i>
۷۹	۴-۳- نتیجه گیری نهایی
۸۰	۴-۴- پیشنهاداتی برای کارهای آتی
۸۱	پیوست ۱
۸۶	<b>فصل پنجم: مراجع</b>
۹۲	خلاصه انگلیسی

## فهرست شکل ها

صفحه	عنوان
۱۹	شکل ۲-۱) مورفولوژی سفید پلت و سپیدار
۲۰	شکل ۲-۲) نقشه پراکنش سپیدار در دنیا
۲۲	شکل ۲-۳) درخت فیلوژنی گیاهان
۲۴	شکل ۲-۴) دیاگرام نشانگرهای مولکولی مورد استفاده در مطالعه های سیستماتیک
۲۵	شکل ۲-۵) موقعیت بخش های کد کننده و غیر کد کننده در cpDNA
۲۷	شکل ۲-۶) پتانسیل اطلاعاتی لوکوس های کلروپلاستی
۲۹	شکل ۲-۷) میانگین مقادیر PIC ترکیب شدن چند لوکوس با هم
۳۱	شکل ۲-۸) موقعیت منطقه <i>trnS-F</i> و پرایمرهای آن
۴۹	شکل ۳-۱) موقعیت مکانی رویشگاه های تحت مطالعه سفید پلت
۵۸	شکل ۳-۲) نمایش سیکل های تکراری واکنش PCR
۶۹	شکل ۴-۱) فاصله بین ژنی <i>trnL-F</i> ژنوم پلاستیدی و موقعیت پرایمرهای آن
۶۹	شکل ۴-۲) قطعات تکثیر شده <i>trnL-F</i> سپیدار و سفید پلت در ژل آگارز
۷۰	شکل ۴-۳) Electropherogram توالی قطعه <i>trnL-F</i>
۷۵	شکل ۴-۴) درخت فیلوژنی سفید پلت و سپیدار به روش ماکزیمم پارسیمونی
۷۷	شکل ۴-۵) درخت فیلوژنی سفید پلت و سپیدار به روش استرایت کانسنسوس



## فهرست جدول ها

صفحه	عنوان
۸	جدول ۱-۲) مقایسه سیستم رده بندی کروئوئیسیت و APG جنس صنوبر
۹	جدول ۲-۲) بخش های صنوبر و رویشگاه های آن ها
۳۱	جدول ۳-۲) توالی شش پرایمرهای طراحی شد برای منطقه <i>trnT-F</i>
۴۶	جدول ۱-۳) لیست برخی از مواد شیمیایی و آنزیم های مورد استفاده
۴۷	جدول ۲-۳) لیست برخی دستگاه های مورد استفاده
۴۸	جدول ۳-۳) محل های جمع آوری گروه های مورد مطالعه سفیدپلت و سپیدار
۵۶	جدول ۴-۳) پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر قطعه <i>trnL-F</i>
۶۰	جدول ۵-۳) غلظت و حجم های استاندارد مورد استفاده واکنش گره های اختصاصی PCR
۶۰	جدول ۶-۳) شرایط PCR و برخی از ویژگی های مهم دو آنزیم <i>Pfu</i> و <i>Taq</i>
۷۱	جدول ۱-۴) ترکیب و درصد نوکلئوتید های تشکیل دهنده قطعه <i>trnL-F</i> در صنوبر ها
۷۲	جدول ۲-۴) تخمین الگوی جابجایی نوکلئوتید در کل قطعه <i>trnL-F</i>
۷۳	جدول ۳-۴) تغییرات نوکلئوتید های منطقه <i>trnL-F</i>
۷۴	جدول ۴-۴) حداقل و حداکثر فاصله ژنتیکی گونه های مطالعه شده و گونه های بانک ژن

فهرست علائم و اختصارات

علامت اختصاری	اصطلاح انگلیسی	اصطلاح فارسی
<b>Mbp</b>	(Mega base pair)	مگا جفت باز
<b>Kbp</b>	(Kilo base pair)	کیلو جفت باز
<b>bp</b>	(base pair)	جفت باز
<b>mM</b>	(mili Molar)	میلی مولار
<b>µg/ml</b>	(microgram per milliliter)	میکروگرم در میلی لیتر
<b>OD</b>	(Optical Density)	جذب نوری

## مقدمه

موقعیت ویژه جغرافیایی شمال ایران و مصون ماندن آن از یخبندان های دوران چهارم زمین شناسی، سبب شکل گیری یکی از شاخص ترین جنگل های خزان کننده پهن برگ با غنای گونه ای بالا، اختصاصی<sup>۱</sup> و با قدمت طولانی در نیمکره شمالی گردیده است. جنگل های هیرکانی با بیش از ۱۳۰ گونه درختی و درختچه ای در طول رشته کوه های البرز قرار دارند که هم چون نواری سبز، سواحل جنوبی دریای خزر را از آستارا تا گرگان در شمال ایران می پوشاند [۳]. این منطقه رویشی ۱۵ درصد از جنگل های ایران و ۱/۱ درصد از سطح کل کشور را به خود اختصاص داده است [۵]. این جنگل ها توپولوژی نابرابر و شیب های بسیار تندی دارند و اغلب در مناطق بسیار شیب دار با بیشتر از ۱۰۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا و پوششی از برف در فصل زمستان واقع شده اند [۴۷].

[۴۶].

---

<sup>1</sup> Endemic

مناطقى با شیب های بیشتر از ۱۰۰٪ به عنوان مناطق حفاظت شده می باشند که اعمال جمع آوری در آن ها ممنوع شده اند [۴۶]. این جنگل ها از بارندگی خوبی برخوردارند. میزان بارندگی معمولا از سمت غرب به شرق کاهش می یابد. حداکثر بارندگی در حوالی رشت و انزلی در حدود ۲۰۰۰ میلی متر در سال و حداقل آن در حوالی گرگان در حدود ۷۰۰ میلی متر در سال می باشد [۱۲]. این مناطق جایگاه انحصاری برخی از فسیل های زنده از گونه های پوپولوس کاسپیکا<sup>۲</sup>، گلدیشیا کاسپیکا<sup>۳</sup>، پاروتیا پرسیکا<sup>۴</sup>، پتروکاریا فراکسینی فولیا<sup>۵</sup>، و نمونه های غالب از فاگوس اورینتالیس<sup>۶</sup>، کورکوس کاستنی فولیا<sup>۷</sup> و آلنوس گلوتینوزا<sup>۸</sup> می باشند [۵۳].

از جمله عناصر گیاهی موجود در جنگل های هیرکانی پوپولوس کاسپیکا (سفید پلت)، آلنوس گلوتینوزا<sup>۹</sup> (توسکای قشلاقی)، سلتیس استرالیس<sup>۱۰</sup> (داغداغان)، بوکسوس هیرکانا<sup>۱۱</sup> (شمشاد هیرکانی)، پتروکاریا فراکسینی فولیا<sup>۱۲</sup> (لرگ)، گلدیشیا کاسپیکا<sup>۱۳</sup> (لیلکی)، آلبیزیا جولیبیرسین<sup>۱۴</sup> (شب خسب)، کوئرکوس پترا<sup>۱۵</sup> (سفید مازو)، فیکوس کاریکا<sup>۱۶</sup> (انجیر)، پونیکا گراناتوم<sup>۱۷</sup> (انار)، پاروتیا پرسیکا<sup>۱۸</sup> (انجیلی)، کارپینوس بتولوس<sup>۱۹</sup> (ممرز)، تاکسوس باکاتا<sup>۲۰</sup> (سرخدار)، فاگوس اورینتالیس (راش)، اسر ولوتینوم<sup>۲۱</sup> (افرا پلت)، کوئرکوس ماکرانتر<sup>۲۲</sup>

<sup>2</sup> *Populus caspica* Bornm

<sup>3</sup> *Gleditsia caspica* Desf.

<sup>4</sup> *Parrotia persica* C.A.Mey.

<sup>5</sup> *Pterocarya fraxinifolia* (Lam.) Spach

<sup>6</sup> *Fagus orientalis* Lipsky

<sup>7</sup> *Quercus castanifolia* C.A.Mey.

<sup>8</sup> *Alnus glutinosa* L.

<sup>9</sup> *Alnus glutinosa* L.

<sup>10</sup> *Celtis australis* L.

<sup>11</sup> *Buxus hyrcana*

<sup>12</sup> *Pterocarya fraxinifolia* (Lam.) Spach

<sup>13</sup> *Gleditsia caspica* Desf.

<sup>14</sup> *Albizia julibrissin* Durazz.

<sup>15</sup> *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl

<sup>16</sup> *Ficus carica* L.

<sup>17</sup> *Punica granatum* L.

<sup>18</sup> *Parrotia persica* C.A.Mey.

<sup>19</sup> *Carpinus betulus* L.

<sup>20</sup> *Taxus baccata* L.

(اوری)، کارپینوس اوریتالیس<sup>۲۳</sup> (لور)، گونه های الکیلا<sup>۲۴</sup>، کامپانولا استوینیئی<sup>۲۵</sup> (گل استکانی)، فستوکا اوینا<sup>۲۶</sup>، رانانکولوس<sup>۲۷</sup> (الاله) را می توان نام برد [۱۲].

از مهمترین جوامع جنگلی در شیب های شمالی البرز می توان جوامع زیر را نام برد:

- ۱- از ۲۰ تا ۵۰ متر ارتفاع از سطح دریا جامعه کوئرکو بوکستوم<sup>۲۸</sup> یا جامعه بلوط- شمشاد
- ۲- از ۵۰ تا ۴۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا جامعه کوئرکو- کارپیتوم<sup>۲۹</sup> یا جامعه بلند مازو- ممرز
- ۳- از ۴۰۰ تا ۸۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا جامعه پارتیو- کارپیتوم<sup>۳۰</sup> یا جامعه انجیلی- ممرز
- ۴- از ۱۰۰۰ تا ۲۳۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا جامعه فاگتوم هیرکانوم<sup>۳۱</sup> یا جامعه راش- راشستان. این جامعه یکی از غنی ترین و ارزشمندترین جوامع جنگلی هیرکانی به شمار می رود و گونه اصلی آن فاگوس اوریتالیس است.

۵- از ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا جامعه کارپیتوم اوریتالیس یا جامعه لور دیده می شود که گونه اصلی آن کارپینوس اوریتالیس می باشد البته جوامع گیاهی دیگری نیز وجود دارد [۱۲].

از میان درختان بومی موجود در جنگل هیرکانی سفیدپلت از خانواده بید<sup>۳۲</sup> می باشد که این گونه صنوبر

از لحاظ مورفولوژیکی شباهت بالایی با سپیدار<sup>۳۳</sup> داشته، به طوری که محققان را در شناسایی و مجزا ساختن این

<sup>21</sup> *Acer velutinum* Boiss .

<sup>22</sup> *Quercus macranthera* Fisch.

<sup>23</sup> *Carpinus orientalis* Mill.

<sup>24</sup> *Alchamilla* spp.

<sup>25</sup> *Festuca ovina* L.

<sup>26</sup> *Campanula stevenii*

<sup>27</sup> *Ranunculus* spp.

<sup>28</sup> *Quercus buxetum*

<sup>29</sup> *Quercus carpinetum*

<sup>30</sup> *Parrotia carpinetum*

<sup>31</sup> *Fagetum hyrcanum*

<sup>32</sup> Salicaceae

<sup>33</sup> *Populus alba* L.

دو گونه در تردید قرار می دهد. صنوبرها معمولاً نورپسند و نم پسند بوده که در زمین های آبدوست حاشیه رودخانه ها و در مناطقی با خاک آبرفتی مرطوب معمولاً رشد می کنند. بیشتر تحقیق ها بر روی هیبریدهای درون گونه ای صنوبرها متمرکز می باشد، در میان درختان مختلف جنگلی که باد گرده افشان هستند، متداول ترین هیبریداسیون طبیعی در بین صنوبرها مشاهده می شود [۴۱].

به منظور مطالعه و بررسی تنوع ژنتیکی گونه های گیاهی روش ها و نشانگر های مختلف مولکولی امروزه استفاده می شود که از جمله این نشانگر ها DNA کلروپلاستی می باشد که به شدت محافظت شده بوده و دستخوش تغییر نوترکیبی و جهش قرار نمی گیرد [۷۴] و معمولاً میزان جانشینی نوکلوتیدی در ژنوم پلاستیدی اندک است از این رو کلروپلاست دارای ساختار ژنوم نسبتاً ثابتی است و سطوح بیشتری از تنوع را برای آنالیز های فیلوژنتیکی فراهم می آورد [۷۴، ۵۶]. از جمله توالی های کلروپلاستی مورد استفاده گسترده در مطالعه های فیلوژنتیک، فاصله انداز درون ژنی *trnL-F* و اینترون *trnL* است که در سطوح درون گونه ای و در سطح جنس برای گیاهان مطرح می گردد [۷۹]. در این تحقیق سعی شده است با استفاده از پرایمر های جهانی قطعه *trnL-F* که توسط تابرلت<sup>۳۴</sup> و همکاران (۱۹۹۱) [۸۰] طراحی شده جهت بررسی تنوع ژنتیکی سفیدپلت از سپیدار استفاده گردد و قدرت این نشانگر در شناسایی و تفکیک این دو گونه مورد بررسی قرار گیرد.

---

<sup>34</sup> Taberlet

## تئوری

### ۱-۲- رده بندی جنس صنوبر

در سیستم رده بندی APG<sup>۱</sup> خانواده بید از راسته مال پیگیالز<sup>۲</sup> می باشد که از دو جنس صنوبر و بید<sup>۳</sup> تشکیل شده است ولی در سیستم رده بندی کروئوئیست<sup>۴</sup>، صنوبر در راسته سالیکالز قرار می گیرد [۹، ۷۷]. (جدول ۱-۲). تعداد گونه های صنوبر بین ۲۲ تا ۸۵ عدد به علاوه صدها هیبرید، واریته و کولتیوار توصیف می شود که این اختلاف در شناسایی بین گونه های صنوبر به خاطر وجود هیبرید بین آن ها و تشخیص سخت مرز بین این گونه ها می باشد اخیرا در برخی از منابع جنس صنوبر را متشکل از ۲۹ گونه و در ۶ بخش<sup>۵</sup> (آباسو<sup>۶</sup>، آیجریوس<sup>۷</sup>، لوکوئیده<sup>۸</sup>، پوپولوس، تاکاماهاکا<sup>۹</sup>، تورونگا<sup>۱۰</sup>) طبقه بندی می کنند [۴۱] ولی در برخی منابع

<sup>۱</sup> Angiosperm phylogeny website

<sup>۲</sup> Malpighiales

<sup>۳</sup> *Salix*

<sup>۴</sup> Cronquist classification system

<sup>۵</sup> Section

<sup>۶</sup> *Abaso*

<sup>۷</sup> *Aigerios*

جنس صنوبر به ۵ بخش (پوپولوس، ایجریوس، تاکاماهاکا، لوکوئیده، تورونگا) تقسیم بندی شده است [۸۳، ۸۲]

(جدول ۲-۲)، معمولا به مجموعه گونه های صنوبر (کاتن وود<sup>۱۱</sup>، اسپن<sup>۱۲</sup>، پوپلارز<sup>۱۳</sup>) به صورت عامه پوپلارز

نیز می گویند [۷۷].

جدول ۱-۲) مقایسه سیستم رده بندی کروئوئیست و APG جنس صنوبر [۷۷، ۹۱].

سیستم رده بندی کروئوئیست		
Kingdom	Plantae	Plants
Subkingdom	Tracheobionta	Vascular plants
Superdivision	Spermatophyta	Seed plants
Division	Magnoliophyta	Flowering plants
Class	Magnoliopsida	Dicotyledons
Subclass	Dilleniidae	
Order	Salicales	
Family	Salicaceae	Willow family
Genus	<i>Populus</i>	cottonwood
سیستم رده بندی APG		
Eukaryota	Viridiplantae	
	Streptophyta	
Streptophytina	Embryophyta	
	Tracheophyta	
Euphyllophyta	Spermatophyta	
	Magnoliophyta	
	eudicotyledons	
	Core eudicotyledons	
	Rosides	
	Fabidae	
	Malpighales	
	Salicaceae	
	<i>Populus</i>	

<sup>8</sup> *Leucooides*

<sup>9</sup> *Tacamahaca*

<sup>10</sup> *Turanga*

<sup>11</sup> *Cottonwood*

<sup>12</sup> *Aspen*

<sup>13</sup> *Poplars*



جدول ۲-۲) بخش های صنوبر و رویشگاه های آن ها [۸۲]. (\* با توجه به مطالعات این تحقیق با استفاده از نشانگر *trnL-F*)

Section	Taxon	رویشگاه
<i>Populus</i> section <i>Populus (Leuce)</i> aspens and white poplar	<i>P. Tremula</i> (Common Aspen)	اروپا، آسیای شمالی
	<i>P. tremuloides</i>	اروپا، آسیای شمالی، آمریکای شمالی
	<i>P. grandidentata</i> - Bigtooth.	اروپا، آسیای شمالی، آمریکای شمال شرقی
	<i>P. adenopoda</i>	چین، آسیای شرقی
	<i>P. sieboldii</i>	ژاپن، آسیای شرقی
	<i>P. alba</i> - White Poplar	اروپای جنوبی، آسیای مرکزی
	<i>P. caspica</i> *	ایران، (جنگل هیرکانی)
<i>Populus</i> section <i>Aegiros</i> black poplars or cottonwoods	<i>P. nigra</i> - Black Poplar.	اروپا
	<i>P. canadensis</i> ( <i>P. nigra</i> × <i>P. deltoides</i> ) - Hybrid	
	Black Poplar	
<i>Populus</i> section <i>Tacamahaca</i> balsam poplars Species <i>Trichocarpa</i> Cottonwood	<i>P. deltoides</i>	آمریکای شمال شرقی
	<i>P. fremontii</i>	آمریکای شمال غربی
	<i>P. petrowskyana</i>	روسیه، اروپا، آسیا
	<i>P. angustifolia</i>	آمریکای شمال مرکزی
	<i>P. balsamifera</i>	شمال آمریکای شمالی
	<i>P. trichocarpa</i>	آمریکای شمال غربی
<i>Populus</i> section <i>Leucooides</i> necklace poplars or bigleaf poplars	<i>P. laurifolia</i>	آسیای مرکزی
	<i>P. simonii</i>	شمال شرقی آسیا
	<i>P. maximowiczii</i>	شمال شرقی آسیا
	<i>P. heterophylla</i>	جنوب شرقی آمریکای شمالی
	<i>P. lasiocarpa</i>	چین، آسیای شرقی
<i>Populus</i> section <i>Turanga</i> subtropical poplars	<i>P. wilsonii</i>	آسیای شرقی
	<i>P. euphratica</i>	جنوب غربی آسیا
	<i>P. ilicifolia</i>	شرق آفریقا
	<i>P. section Abaso</i>	مکزیک، مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری،
<i>Populus</i> section <i>Abaso</i>	<i>P. mexicana</i>	مکزیک
	<i>P. mexicana</i>	مکزیک [۷]

## ۲-۲- پراکنش جغرافیایی صنوبر

صنوبر ها که از عمده ترین درختان جنگلی پرمصرف به خصوص در شمال آمریکا، اروپا به شمار می روند، از لحاظ اکولوژیکی، اقتصادی و تکاملی حائز اهمیت می باشند [۷۷]. صنوبر ها اصولاً درختانی هستند که سرشت اکولوژیک بسیار متفاوتی داشته و در اقلیم های گرمسیری و سردسیری، معتدله، مرطوب و خشک از حاشیه دریاها تا مناطق جلگه ای گسترده شده اند اکثراً در نیمکره شمالی و اندکی از آن ها در نیمکره جنوبی پراکنده شده اند و تاکنون هیچ صنوبر بومی از آفریقای مرکزی و جنوبی گزارش نشده است [۳۰].

## ۲-۳- شرایط اکولوژیک رشد صنوبر

صنوبرها نقش اکولوژیکی مهمی را به عنوان پیشگامان جنگل های نیمکره شمالی و جنگل های حاشیه رودها ایفا می کنند [۴۱]. صنوبرها معمولاً نورپسند و رطوبت دوست بوده و در زمین های آبدوست حاشیه رودخانه ها و مناطق مرطوب رشد می نمایند [۲۷]. صنوبر ها برای رشد مطلوب نیاز به آب فراوانی دارند تا آن جا که گفته می شود برای افزایش یک گرم ماده خشک در طول فصل رشد (حدود ۱۵۰ روز)، یک لیتر آب مصرف می کنند از آن جا که میزان تنفس ریشه ای آن ها زیاد است خاک نباید دارای آب غرقابی ایستا و بافت سنگین باشد.

مناسب ترین خاک برای آن ها خاکی با بافت یکنواخت و ترکیب مناسبی از ذرات رس و سیلیس است که در کل نباید مقدار رس آن از ۲۰ تا ۳۰ درصد بیشتر باشد و البته بعضی گونه ها مقدار بیشتری را تحمل می کنند [۶]. اکثر گونه های صنوبر درختی اند ولی برخی از گونه های آن ممکن است به خاطر شرایط محیطی خاص به صورت درختچه ای درآیند [۴۱].

### ۲-۳-۱- اهمیت اکولوژیک و اقتصادی درختان صنوبر

احتیاج روز افزون به چوب و فرآورده های آن در سطح جهانی باعث شده است تا دیگر الگوهای قدیمی چوب در واحد سطح، جوابگوی نیاز روز افزون صنایع چوب نباشد. لذا توجه بیشتر به روش های مختلف افزایش در واحد سطح با استفاده از روش های گوناگون اصلاح نژاد، به گزینی، تلقیح مصنوعی، انتخاب گونه های سریع الرشد، کوتاه ماندن دوره های بهره برداری و گونه های سازگار با دوره های کوتاه مدت ضروری می باشد.

آن چه بدیهی است این است که روند صعودی تکنولوژی چوب، کیفیت بالا را با استفاده از پروسه های مختلف تولید به فرآورده های چوبی اعطا می کند و از سوی دیگر با بالا رفتن مصرف چوب، کیفیت چوب روز به روز ارزش بیشتری می یابد. پس دور از باور نخواهد بود که در آینده ای نه چندان دور بی ارزش ترین چوب های امروزی دارای ارزش فراوانی گردند [۶].

### ۲-۴- رشد صنوبر و رقابت بین درختان جنگلی

همه گونه های صنوبر تک پایه، برگ ریز و (گاهی نیمه یا همیشه سبز) هستند، پایه نر تولید دانه گرده و پایه ماده تولید تخمک می کند. گل ها در پایه های مجزا رشد می کنند [۲۷]. صنوبر ها به خاطر باد گرده افشان بودن شان، پتانسیل زیادی از جریان ژنی بالا را نشان می دهند دانه های صنوبر تقریباً کوچک بوده و جنین آن ها در یک پوشش فیبری پنبه مانندی قرار گرفته است که امکان جا به جایی آن ها را به مسافت های دور با آب و باد فراهم می نماید [۴۱].

از میان درختان معتدله دارای شاتون ماده، تنها صنوبر ها و بیدها هستند که دانه های با پوشش مویی پنبه مانند بر روی بخشی از جفت در دیواره نازک کپسول آن ها دیده می شود [۳۰]، به خاطر کوتاه بودن قوه نامیه بذر، دانه های صنوبر پس از پراکنده شدن باید خود را به یک محیط نمدار با نور خورشید کم برسانند تا بتوانند زنده بمانند [۴۱]. رقابت بین درختان جنگلی سبب می شود که امکان جوانه زنی و رشد این درختان کاهش می یابد. برای مثال میزان استقرار موفقیت آمیز جوانه اسپن ها در مناطق مرتفع از نیمکره معتدله شمالی در زمین هایی که در معرض حریق قرار گرفته اند به دلیل کاهش میزان رقابت ها، افزایش می یابد [۲۷].

## ۲-۵- تولید مثل صنوبر

به خاطر شرایط سخت جوانه زنی و رشد جوانه های صنوبر، تولید مثل جنسی در میان صنوبرها بیشتر و متداول تر از تولید مثل رویشی (غیر جنسی) می باشد، این گونه ها قادرند به صورت کلونی از طریق پاجوش ها<sup>۱۴</sup>، گسترش یابند که یک روش مفید برای کشت صنوبرها محسوب می شود [۷۷]. همه صنوبرها تمایل شدیدی برای جوانه زدن از طریق پاجوش ها دارند [۲۷]. به عنوان مثال صنوبرها در جایی (مثلا در زمین های سیلابی، یا زمین هایی با سطح آب بالا و یا حریق زده) که رقابت با سایر درختان جنگلی محدود شده است می توانند تکثیر یافته و بیشه های بزرگی را تشکیل دهند. بنابراین یک ژنوتیپ از یک ساقه منفرد تقریباً بین ۳۰۰-۵۰ سال می تواند ثابت و برقرار باشد. از این رو اسپن ها در بخش پوپولوس با داشتن ریشه هایی به شدت جوانه زا قادرند در پهنه جغرافیایی وسیعی گسترش یابند [۴۱].

<sup>14</sup> Soboliferous