Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Wood and Forest Science and Technology

Print ISSN: 2322-2077
Online ISSN: 2322-2786

Ecotypic diversity changes of *Quercus castaneifolia* populations in drought gradient (west-east) in Golestan Province

Azam Ahmadi Mazracheh[1] | Davoud Azadfar[*2] | Zohre Saeedi[3]

1. M.Sc. Student of Silviculture, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: azam.ahmadi1389@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., of Forest Biotechnology, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: azadfar@gau.ac.ir
3. Ph.D. Graduate of Forest Sciences, Faculty of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: saeedizohre@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 12.13.2016
Revised: 08.14.2021
Accepted: 08.26.2021

Keywords:
Drought gradient,
Ecotype,
Golestan province,
Peroxidase marker,
Quercus castaneifolia

ABSTRACT

Background and Objectives: Golestan province located in the eastern part of northern forests of Iran has a wide geographical distribution of *Quercus castaneifolia* in terms of rainfall, temperature and soil type. Climatic gradients from the west to the east of Golestan province have different impacts on the genetic and the ecotype diversity of tree populations over time that knowing the amount of this diversity helps us to manage/maintain the genetic structure of these species. The genetic diversity of trees is so important for adaptation of forests to climate change and for sustaining other species and entire forest ecosystems. The aim of this research is exploring the ecotype diversity changes of *Quercus castaneifolia* populations in drought gradient (west-east) of Golestan province.

Materials and Methods: To do the study, four different populations of *Quercus castaneifolia* from west to east of Golestan province in habitat areas of Tuskestan, Aliabade Katul, Loveh and Golidagh were selected. First, about 100 individuals of *Quercus castaneifolia* with similar diameter and health and with approximately 50 to 100 meters distance from each other, to avoid the possible affinity in each population, were considered and then 20 individuals of *Quercus castaneifolia* among them were randomly selected. After sampling, the qualitative study of marker peroxidase of biennial branches in four different populations was done by the use of vertical electrophoresis and by the method of Poly Acrylamide Gel Electrophoresis (PAGE). To analyze the data, scoring of bands into zero and one respectively for the absence and presence of bands was done based on the prepared gels. Then GenAlex, Past and NTSYS software packages were used for cluster analysis, Principle Coordinate Analysis as well as data analysis regarding the allelic characteristics of studied marker including the number of observed alleles, effective alleles, Shannon's information index, heterozygosity and polymorphic percentage and ecotype diversity within and among populations.

Results: The results of this research based on total, observed, effective alleles and heterozygosity of the peroxidase marker showed that ecotype diversity and genetic diversity parameters examined in the west-east gradient of the different habitats of Golestan province is different and in the distant past, the genetic flow has been established through adjacent populations so that ecotypes are not separable.

Conclusion: To manage the maintenance and development of the genetic diversity of these stands, at first it is necessary to stabilize the present condition with respect to the diversity through emphasizing and maintaining the index bases inside the populations and helping their regeneration and secondly, developing the present diversity to combat the climate change threats through gene flow with the help of seed and seedling transition from the adjacent populations.

Cite this article: Ahmadi Mazracheh, Azam, Azadfar, Davoud, Saeedi, Zohre. 2022. Ecotypic diversity changes of *Quercus castaneifolia* populations in drought gradient (west-east) in Golestan Province. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 28 (4), 65-81.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JWFST.2022.12081.1639
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۷۷
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۸۶

تغییرات تنوع اکوتیپی جمعیت‌های گونه بلندمازو در طول گرادیان خشکی (غربی– شرقی) استان گلستان

اعظم احمدی مزرعچه[۱] | داوود آزادفر[۲*] | زهره سعیدی[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد جنگل‌شناسی، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: azam.ahmadi1389@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، دانشیار بیوتکنولوژی جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: azadfar@gau.ac.ir

۳. دانش‌آموخته دکتری علوم جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: saeedizohre@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی– پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۲۳
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۵/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۴

واژه‌های کلیدی:
استان گلستان،
اکوتیپ،
بلندمازو،
گرادیان خشکی،
نشانگر پراکسیداز

چکیده

سابقه و هدف: استان گلستان واقع در بخش شرقی جنگل‌های شمال ایران دارای پراکنش وسیع جغرافیایی گونه بلندمازو از نظر میزان بارندگی، درجه حرارت و نوع خاک است. وجود گرادیان‌های اقلیمی از غرب به شرق استان گلستان اثرات متفاوتی بر تنوع ژنتیکی و اکوتیپی جمعیت‌های درختی در گذر زمان می‌گذارد که اطلاع از میزان این تنوع ما را در مدیریت حفاظت از ساختار ژنتیکی این گونه‌ها یاری می‌رساند. تنوع ژنتیکی درختان برای سازگاری جنگل‌ها با تغییرات اقلیمی و حفظ و بقای سایر گونه‌ها و کل اکوسیستم جنگل بسیار دارای اهمیت است. هدف این پژوهش بررسی تغییرات تنوع اکوتیپی جمعیت‌های بلندمازو در طول گرادیان خشکی (غربی–شرقی) استان گلستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها: برای انجام این پژوهش چهار جمعیت مختلف بلندمازو از غرب به شرق استان گلستان واقع در مناطق رویشگاهی توسکستان، علی‌آباد کتول، لوه و گلیداغ انتخاب گردید. ابتدا در هر جمعیت حدود ۱۰۰ پایه بلندمازو با قطر مشابه و سالم و با فاصله تقریبی ۵۰ تا ۱۰۰ متر از همدیگر برای اجتناب از قرابت‌های احتمالی شناسایی و از میان آن‌ها ۲۰ پایه بلندمازو به‌طور تصادفی انتخاب شدند. پس از انجام نمونه‌برداری، مطالعه کیفی نشانگر پراکسیداز شاخه دوساله با استفاده از الکتروفورز عمودی و به‌روش پلی‌اکریل آمید ژل الکتروفورز (PAGE) انجام شد. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها، امتیازدهی باندها به‌صورت صفر و یک به‌ترتیب برای عدم حضور و حضور باندها از روی ژل‌های تهیه‌شده انجام گرفت. سپس جهت تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مختصات اصلی و همچنین تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در خصوص ویژگی‌های آللی نشانگر مورد مطالعه شامل تعداد آلل مشاهده‌شده، تعداد آلل مؤثر، شاخص اطلاعات شانون، هتروزیگوتی و درصد چندشکلی و تعیین تنوع اکوتیپی درون و بین جمعیتی از نرم‌افزارهای GenAlex، Past و NTSYS استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش بر اساس آلل کل، مشاهده‌شده، مؤثر و هتروزیگوتی نشانگر پراکسیداز نشان داد که تنوع اکوتیپی و پارامترهای تنوع ژنتیکی مورد بررسی در گرادیان غربی- شرقی رویشگاه‌های مختلف استان گلستان متفاوت بوده و در گذشته‌های دور جریان ژنی از طریق جمعیت‌های همجوار برقرار بوده است به‌طوری‌که اکوتیپ‌ها کاملاً قابل‌تفکیک از یکدیگر نیستند. شاخص اطلاعات شانون نیز در جمعیت‌ها از ۰/۱۷۹ تا ۰/۳۳٤ و هتروزیگوتی از ۰/۱۲۰ الی ۰/۲۱۸ متغیر بود.

نتیجه‌گیری: برای مدیریت حفظ و توسعه تنوع ژنتیکی این توده‌ها باید در درجه اول نسبت به تثبیت شرایط حاضر به لحاظ تنوع از طریق اهمیت دادن و حفظ پایه‌های شاخص درون جمعیت‌ها و کمک به تجدید حیات آن‌ها و در درجه بعدی نسبت به توسعه تنوع موجود برای مقابله با تهدیدات تغییرات اقلیمی از طریق جریان ژنی به کمک انتقال بذر و نهال از جمعیت‌های همجوار موجود در صورت امکان بهره برد.

استناد: احمدی مزرعچه، اعظم، آزادفر، داوود، سعیدی، زهره (۱۴۰۰). تغییرات تنوع اکوتیپی جمعیت‌های گونه بلندمازو در طول گرادیان خشکی (غربی- شرقی) استان گلستان. *نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل*، ۲۸ (۴)، ۶۵-۸۱.
DOI: 10.22069/JWFST.2022.12081.1639

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

تنوع ژنتیکی برای سازگاری با تغییرات محیطی و بقای طولانی‌مدت گونه‌ها بسیار مهم و حیاتی است. بدین منظور، آگاهی و داشتن شناخت از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت اهمیت ویژه‌ای در مدیریت حفاظت منابع طبیعی دارد (۱۵). وجود تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های یک گونه بهترین راه‌کارها را جهت حفظ تنوع جمعیت‌ها و یافتن پایه‌های مادری برتر برای ذخایر بذری ارائه می‌کند (۱۹). همچنین تعیین کمیت و ارزیابی تنوع ژنتیکی درون جمعیت و بین جمعیت‌های یک گونه این امکان را فراهم می‌کند تا بهترین روش‌های حفظ و نگهداری تنوع جمعیت‌ها را شناخت (۱۳). گوناگونی ژنتیکی پیش‌شرط استمرار بقاء در شرایط ناهمگن زمانی و مکانی پیش‌رو و توانایی حفظ سازگاری برای نسل‌های آینده است (۲٦). هم‌چنین با بالا رفتن تنوع ژنتیکی در جامعه حدود انتخاب هم در طبیعت و هم به‌طور مصنوعی وسیع‌تر می‌شود (۱۰). تنوع ژنتیکی درختان نیز برای سازگاری جنگل‌ها با تغییرات اقلیمی (۲۵ و ۱٤) و حفظ و بقای سایر گونه‌ها و کل اکوسیستم جنگل بسیار دارای اهمیت است (٤۱). گروه‌های مختلفی از نشانگرها شامل صفات ظاهری، پروتئین‌های ذخیره‌ای، آیزوزایم‌ها، انواع نشانگرهای DNA و اخیراً نیز خصوصیات سیتوژنتیک برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده می‌شوند که هر یک دارای مزایا و معایب خاصی هستند (۲۲). بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای بیوشیمیایی (آنزیم و پروتئین‌های ذخیره‌ای) و مولکولی (DNA) معمول است (۳). پراکسیداز از جمله نشانگرهای بیوشیمیایی می‌باشد که قادر است ماده سمی آب اکسیژنه را تجزیه کند. پراکسیداز در تمام سلول‌های گیاهی وجود دارد (۱). پراکسیدازها در بسیاری از فرایندهای سلولی مانند متابولیسم اکسین، تشکیل چوب، اتصالات عرضی در دیواره سلول گیاهی، پاسخ به تنش‌های محیطی و نظایر آن شرکت می‌کنند (۳۱). فعالیت این آنزیم در فصول مختلف سال یکسان نیست به‌طوری‌که حداکثر فعالیت را در فصول سرد سال و حداقل فعالیت را در تابستان دارد (۲۳). این آنزیم از مهم‌ترین آنزیم‌ها در سیر تحولات فیزیولوژیک گیاهان است و به‌دلیل فراوانی باندها و نیز امکان وضوح باند برای مطالعات ایزوآنزیمی همواره از جایگاه خاصی برخوردار است (۹).

جنگل‌های بلوط شمال پس از راشستان‌ها با ارزش‌ترین توده‌های جنگلی به‌شمار می‌روند و گونه بلندمازو ٦/٦ درصد از سطح جنگل‌های شمال و از لحاظ حجم تقریباً ۸/۰۱ درصد از حجم چوبی و از لحاظ تعداد، ۷/٦٥ درصد درختان جنگل‌های شمال را به‌خود اختصاص می‌دهد (۳٤). این جنگل‌ها به علت وجود مصارف مختلف صنعتی و سنتی چوب بلوط و واقع‌شدن آن‌ها در جلگه و ارتفاعات پایین‌بند از دیرباز مورد بهره‌برداری شدید قرار گرفته‌اند (۳۵).

استان گلستان در بخش شرقی جنگل‌های شمال ایران واقع است و دارای پراکنش وسیع جغرافیایی گونه بلندمازو از نظر میزان بارندگی، درجه حرارت و نوع خاک است. این تنوع درنتیجه سازگاری این گونه با شرایط اقلیمی، توپوگرافی و خاکی بوده و اغلب می‌توان آن را به یک سری از گرادیان‌های محیطی ارتباط داد (۲۰). بلندمازو با نام علمی Quercus *castaneifolia* C. A. Mey در جنگل‌های هیرکانی از سایر گونه‌های جنس بلوط فراوان‌تر است و در ارتفاعات ساحلی پایین‌بند تا ارتفاعات میان‌بند و فوقانی این جنگل‌ها دیده می‌شود (۳۵). این گونه از مهم‌ترین گونه‌های صنعتی است و تا ارتفاع ۵۰ متر و قطر ۲ تا ۲/۵ متر می‌رسد (۳۵). بلندمازو به‌دلیل داشتن دامنه اکولوژیک گسترده و سازگاری مناسب با شرایط اقلیمی و خاکی بسیاری از

مناطق هیرکانی (۳۵) و هم‌چنین با توجه به ارزش بالای اقتصادی و زیست‌محیطی آن به‌عنوان یکی از بهترین گونه‌های بومی برای جنگل‌کاری و احیای مناطق مخروبه در جنگل‌های هیرکانی محسوب می‌گردد (۱۱). پژوهشگران بسیاری در مناطق مختلف دنیا تنوع درختان جنس بلوط را با استفاده از انواع نشانگرها بررسی کرده‌اند. با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۵۰ پایه درخت بلندمازو در پنج رویشگاه در جنگل‌های نکا و نور مازندران با استفاده از فعالیت آنزیمی پراکسیداز بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه‌های میان‌بند و بالابند، کم‌ترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه‌های میان‌بند و پایین‌بند مشاهده شد. هم‌چنین تغییرات ارتفاعی به‌خوبی در گروه‌بندی رویشگاه‌ها ایفای نقش کرده است به‌طوری‌که بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین پایه‌های مرتفع‌ترین رویشگاه با پایه‌های کم ارتفاع‌ترین رویشگاه دیده شده است و علت تنوع و اختلاف بین رویشگاه‌ها اختلاف ارتفاع، اقلیم و اکولوژی رویشگاه‌ها بیان شده است. بررسی تکثر آللی، تعداد آلل مؤثر و هتروزیگوتی و مقایسه مقادیر فوق با مطالعات خارجی نشان داد که تنوع آللی و هتروزیگوتی در جمعیت بلوط‌های هیرکانی بیش‌تر از بلوط‌های اروپاست، امّا تنوع درون جمعیتی بلوط هیرکانی بیش‌تر از تنوع برون جمعیتی آن است (۳۲). در مطالعه‌ایزوآنزیمی تمایز ژنتیکی جمعیت‌های *Quercus robur* و *Quercus petraea* در اروپای مرکزی و شرقی، متوسط تعداد آلل در هر لوکوس جمعیت‌های *Q. robur* بین ۱/۸ تا ۲/٦ و در جمعیت‌های *Q. petraea* بین ۲ تا ۳ بود. هم‌چنین مقدار هتروزیگوتی مورد انتظار در *Q. robur* در مقایسه با *Q. petraea* کمی بالاتر بود (۱۲). در پژوهشی به‌منظور بررسی تأثیر ارتفاع و توپوگرافی بر تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Q. serrate* در کوهستان‌های چی‌چی‌بو در مرکز ژاپن با استفاده از نشانگر ریزماهواره، هتروزیگوتی مشاهده‌شده بین ۰/٦۳۸ و ۰/۸٤٤ بود و این مقدار برای جمعیت‌های کنار آب نسبت به جمعیت‌های قله یا دامنه کوه بیش‌تر بود. نتایج این پژوهش به این اشاره دارد که احتمالاً فقدان خاک مرطوب، مانع توسعه و احیای *Q. serrata* است و تنوع ژنتیکی در مناطق خشک کاهش می‌یابد (۲۷). در مطالعه‌ای نیز تنوع مولکولی و مورفولوژیکی ۵۵ پایه از بلوط ایرانی (*Quercus branti* Lindl.) در هشت منطقه واقع در استان چهارمحال و بختیاری با استفاده از نشانگرهای AFLP، ریزماهواره کلروپلاست cpSSR و مورفولوژی برگ بررسی شد. بر اساس نشانگر ریزماهواره کلروپلاست، سهم تنوع درون جمعیت‌ها (٦٦ درصد) بیش‌تر از تنوع بین جمعیت‌ها (۳٤ درصد) بود (٤۰). هم‌چنین در مطالعه تنوع ژنتیکی ۵ گونه بلوط همیشه‌سبز شامل *Q. ilex*، *Q. coccifera*، *Q. afares*، *Q. canariensis* و *Q. suber* در بخش غربی تونس با استفاده از نشانگرهای کلروپلاستی، نتایج پژوهش بیانگر تنوع ژنتیکی درون‌گونه‌ای پایین و نبود جریان ژنی بین گونه‌ها بود. مقدار تنوع ژنتیکی کل نیز ۰/۳۷۸ گزارش شد (۳٦). در بررسی الگوی فیلوژئوگرافی و ساختار ژنتیکی ۳۰ جمعیت طبیعی گونه *Q. acutissima* بر اساس توالی DNA کلروپلاست در چین، طبق نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) تنوع ژنتیکی بین جمعیتی و درون جمعیتی به‌ترتیب ۵۹/۵٤ و ٤۰/٤٦ درصد بود. نتایج این مطالعه نشان داد که احتمالاً ناهمگنی جغرافیایی و تغییرات آب‌وهوایی، ساختار ژنتیکی و الگوی فیلوژئوگرافی این گونه را تحت‌تأثیر قرار داده است (٤۲)؛ بنابراین علی‌رغم اهمیت آگاهی از تنوع ژنتیکی و اکوتیپی در بحث مدیریت بهره‌برداری توده‌ها در مقابل پیامدهای تغییرات اقلیمی، تاکنون مطالعه‌ای در این خصوص بر روی گونه بلندمازو در

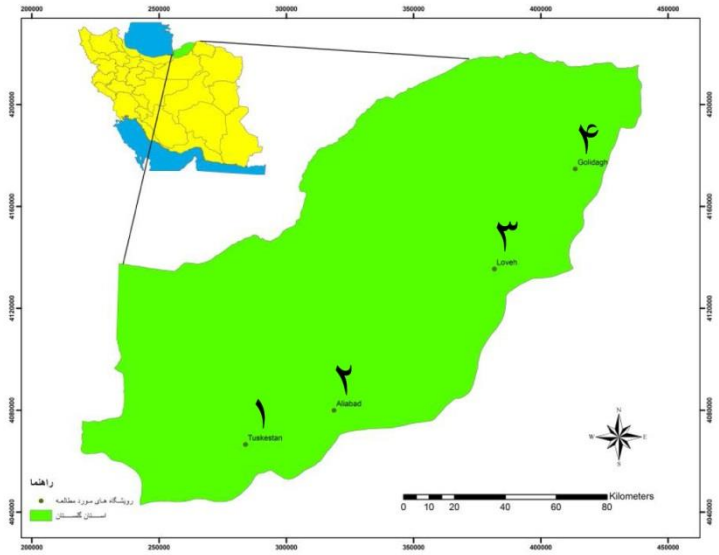
استان گلستان انجام نگرفته است. ازاین‌رو در این پژوهش تغییرات تنوع اکوتیپی جمعیت‌های پایین‌بند گونه بلندمازو در گرادیان خشکی استان گلستان با استفاده از نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: به‌منظور انجام این پژوهش چهار جمعیت مختلف بلندمازو از غرب به شرق استان گلستان واقع در مناطق رویشگاهی توسکستان (طرح گرمابدشت)، علی‌آباد کتول (طرح سرخداری)، لوه و گلیداغ انتخاب گردید (شکل ۱ و جدول ۱). ابتدا در هر جمعیت حدود ۱۰۰ پایه بلندمازو با قطر مشابه و سالم و با فاصله تقریبی ۵۰ تا ۱۰۰ متر از همدیگر برای اجتناب از قرابت‌های احتمالی شناسایی و از میان آن‌ها ۲۰ پایه بلندمازو به‌طور تصادفی انتخاب شدند. در اواسط پاییز ۹٤ نمونه‌های شاخه دوساله، از ارتفاع میانه تاج و از جهت جنوبی (به دلیل تکمیل فرایند فیزیولوژیک) جمع‌آوری شد (١٦) زیرا در فصول رو به سرما میزان پلی‌مورفیسم آنزیم پراکسیداز بیش‌تر است (۱). برای حفظ رطوبت، نمونه‌ها به‌صورت جداگانه درون کیسه نایلونی و در یخدان حاوی یخ خشک (دمای ٤ درجه سانتی‌گراد)، بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد.

مطالعات آزمایشگاهی: عصاره‌گیری از نیم گرم شاخه تر هر درخت که با قیچی باغبانی کاملاً خرد شده بود انجام و بلافاصله با نسبت ۳:۱ با محلول عصاره‌گیری توصیه شده توسط ابرمن و استیچ (۱۹۸۲) مخلوط شد (۷). این محلول شامل ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید اسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، ۳/٦ گرم نمک طعام، ۲ گرم $EDTA\text{-}Na_2$ و ۵۰ گرم پلی‌اتیلن‌گلیکول به حجم یک لیتر است. نمونه‌ها به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و از قسمت شفاف رویی برای مطالعات کیفی آنزیم استفاده شد (۱). مطالعه کیفی آنزیم با استفاده از الکتروفورز عمودی به‌روش PAGE (پلی‌اکریل آمید ژل الکتروفورز) با ترکیب ژل شامل اکریل آمید ۱۲۰ گرم، بیس اکریل آمید ۲ گرم و تریس ٤٥/٦ گرم به حجم یک لیتر صورت گرفت (۲۱).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها: داده‌های الکتروفورتیکی از طریق امتیازدهی باندها به‌صورت صفر و یک به‌ترتیب برای عدم حضور و حضور باندها از روی ژل‌های تهیه‌شده در نرم‌افزار Excel انجام شد. سپس برای تجزیه خوشه‌ای بر اساس بهترین ضریب همبستگی کوفنتیک و تجزیه به مختصات اصلی از نرم‌افزار NTSYS ver. 2.02 استفاده شد (۳۳). در این پژوهش گروه‌بندی داده‌ها به‌روش گروه‌بندی UPGMA و بر اساس ضریب تشابه جاکارد به کمک نرم‌افزار Past صورت گرفت. هم‌چنین تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در خصوص ویژگی‌های آللی نشانگر مورد مطالعه و تعیین تنوع اکوتیپی درون و بین جمعیتی به کمک آزمون AMOVA در نرم‌افزار Ver. 6.2 GenAlex انجام گرفت (۱۷ و ۲۹). لازم به ذکر است که نمونه‌ها با کدهای یک کاراکتری شامل منطقه مورد مطالعه (توسکستان (T)، علی‌آباد کتول (AL)، لوه (LO) و گلیداغ (GO)) مشخص شد.



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی جمعیت‌های گیاهی بلوط مورد مطالعه (۱- توسکستان ۲- علی‌آباد کتول ۳- لوه ٤- گلیداغ).

Figure 1. Geographical position of studied oak populations (1- Tosekestan 2- Aliabadekatul 3- Loveh 4- Golidagh).

جدول ۱- اطلاعات جغرافیایی جمعیت‌های مورد مطالعه.

Table 1. Geographic information of studied populations.

جمعیت Population	طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude	ارتفاع از سطح دریا (متر) Elevation (m)	متوسط دمای سالیانه (درجه سانتی‌گراد) Mean annual temperature (˚C)	میانگین بارندگی سالیانه (میلی‌متر) Mean annual precipitation (mm)	اقلیم منطقه (طبق روش آمبرژه) Climate (Ambreje method)
توسکستان Tosekestan	54° 34' 53.1"	36° 43' 11.8"	775	13.5	575	نیمه‌خشک تا نیمه‌مرطوب Semi-arid to Semi-humid
علی‌آباد کتول Aliabad Katul	54° 58' 00	36° 50' 53.3"	400	17.6	586.2	نیمه‌خشک تا نیمه‌مرطوب Semi-arid to Semi-humid
لوه Loveh	55° 39' 53.4"	37° 21' 29.4"	583	15.05	461	نیمه‌خشک Semi-arid
گلیداغ Golidagh	56° 01' 07.8"	37° 42' 56.5"	1260	13.4	304.6	نیمه‌خشک Semi-arid

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تنوع ژنتیکی چهار جمعیت بلندمازو در گرادیان غربی- شرقی استان گلستان براساس نه آلل کل مشاهده‌شده نشانگر پراکسیداز نشان داد که جمعیت‌های مورد مطالعه به لحاظ پارامترهای تنوع ژنتیکی مورد بررسی با هم متفاوت هستند. میانگین کل جمعیت‌ها شامل تعداد آلل مشاهده‌شده، تعداد آلل مؤثر، شاخص اطلاعات شانون، هتروزیگوتی و درصد چندشکلی به‌ترتیب برابر با ۱/۱۹٤، ۱/۲۵۸، ۰/۲۳۰، ۰/۱۵۲ و ٤۷/۲۲ شد

(جدول ۲). جمعیت توسکستان به‌طورکلی از نظر پارامترهای تنوع ژنتیکی بیان‌شده بیش‌ترین میزان را دارا بود و جمعیت علی‌آباد در رتبه بعد از آن قرار داشت و جمعیت‌های لوه و گلیداغ نیز از نظر پارامترهای مورد بررسی نسبت به سایر جمعیت‌ها در آخرین رتبه قرار گرفتند. شاخص اطلاعات شانون در جمعیت‌ها از ۰/۱۷۹ تا ۰/۳۳٤ و هتروزیگوتی از ۰/۱۲۰ الی ۰/۲۱۸ متغیر بود (جدول ۲). طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)، تفاوت معنی‌داری در سطح خطای کم‌تر از ۱ درصد بین تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها وجود داشت و سهم تنوع درون جمعیت‌ها (۵۹ درصد) بیش‌تر از تنوع بین جمعیت‌ها (٤۱ درصد) مشاهده شد (جدول ۳). نتایج حاصل از ماتریکس نئی برای چهار جمعیت بلندمازو، کم‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۰۷۲) بین دو جمعیت علی‌آباد و گلیداغ و به‌تبع آن بیش‌ترین شباهت ژنتیکی (۰/۹۳۱) بین این دو جمعیت را نشان داد. هم‌چنین بیش‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۱۹۱) بین دو جمعیت لوه و گلیداغ و کم‌ترین شباهت ژنتیکی (۰/۸۲٦) نیز بین این دو جمعیت مشاهده شد (جدول ٤). گروه‌بندی دندروگرام تجزیه خوشه‌ای و نمودار دوبعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی برای جمعیت‌های بلندمازو نیز حاکی از شباهت ژنتیکی کم‌تر دو رویشگاه توسکستان- علی‌آباد نسبت به توسکستان- لوه و توسکستان-گلیداغ بود (شکل‌های ۲ و ۳).

جدول ۲- ویژگی‌های آللی نشانگر پراکسیداز حاصل از شاخه در جمعیت‌های بلندمازو در استان گلستان.

Table 2. Allelic characteristics of peroxidase marker extracted from branch of *Quercus castaneifolia* populations in Golestan province.

پارامترهای تنوع ژنتیکی Genetic diversity parameters	جمعیت‌های مورد مطالعه Studied populations									
	توسکستان Tosekestan		علی‌آباد Aliabad		لوه Loveh		گلیداغ Golidagh		کل Total	
	میانگین Mean	SE Standard Error	میانگین Mean	SE Standard Error	میانگین Mean	SE Standard Error	میانگین Mean	SE Standard Error	میانگین Mean	SE Standard Error
تعداد کل آلل‌ها Total alleles	9		6		6		5		9	
تعداد آلل مشاهده‌شده Observed alleles	1.778	0.147	1.111	0.309	1.000	0.289	0.889	0.309	1.194	0.143
تعداد آلل مؤثر Effective alleles	1.361	0.122	1.244	0.113	1.202	0.116	1.226	0.135	1.258	0.059
شاخص اطلاعات شانون Shannon's information index	0.334	0.093	0.226	0.096	0.179	0.093	0.181	0.098	0.230	0.047
هتروزیگوتی Heterozygosity	0.218	0.067	0.149	0.065	0.120	0.064	0.123	0.070	0.152	0.032
درصد چندشکلی polymorphic Percentage	77.78		44.44		33.33		33.33		47.22	10.52

جدول ۳- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بلندمازو در استان گلستان.

Table 3. Analysis of Molecular Variance of genetic diversity in *Quercus castaneifolia* populations in Golestan province.

ϕ_{pt}	درصد تنوع ژنتیکی Percentage of genetic diversity	واریانس تخمینی Estimated variance	میانگین مربعات Mean of squares	مجموع مربعات Sum of squares	درجه آزادی Degree of freedom	منبع تغییرات Sources of variation
0.415*	41	0.557	11.921	35.763	3	بین جمعیت‌ها Among populations
	59	0.786	0.786	59.750	76	درون جمعیت‌ها Within populations
	100	1.343	-	95.513	79	کل Total

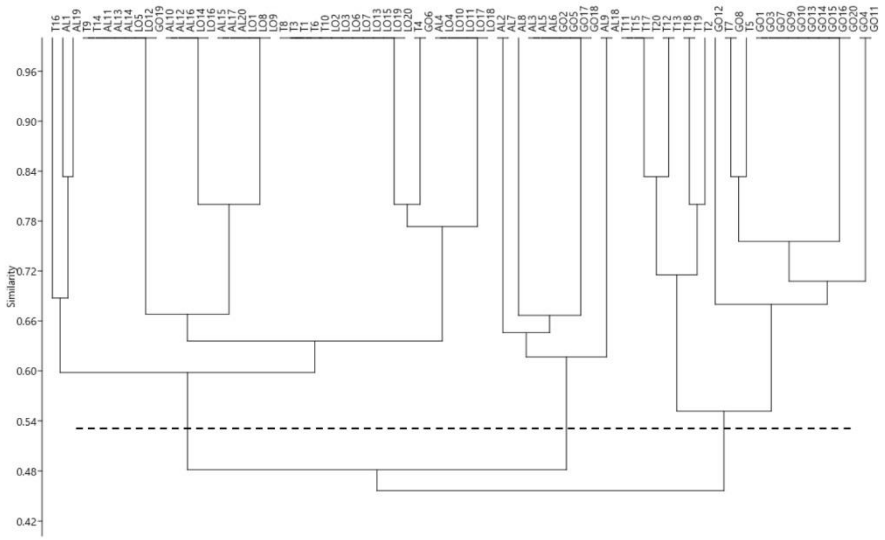
* در سطح ۱ درصد معنی‌دار

* Significant in 1% level

جدول ٤- ماتریکس نئی شباهت ژنتیکی (بالای قطر اصلی) و فاصله ژنتیکی (پایین قطر اصلی) جمعیت‌های بلندمازو در استان گلستان.

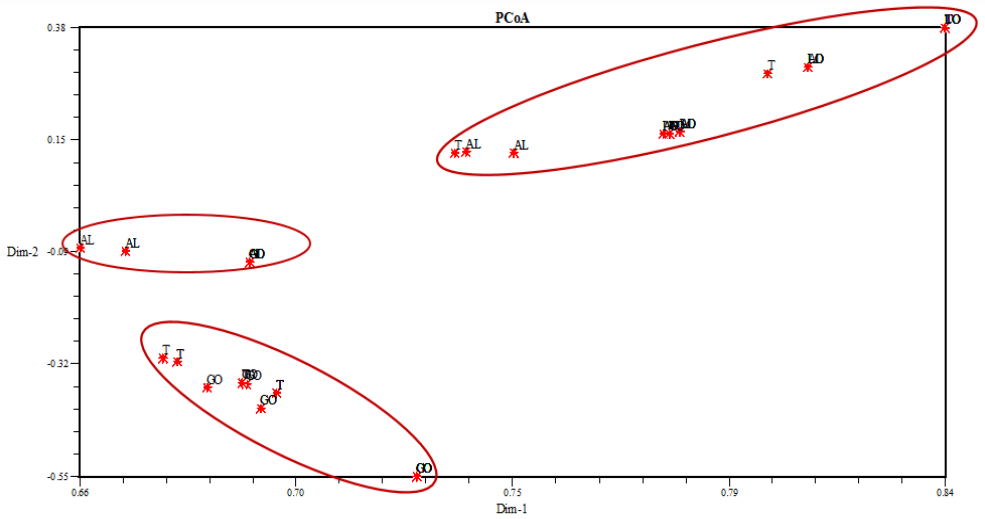
Table 4. Matrix of Nei for genetic identity (top of the main diagonal) and genetic distance (down of the main diagonal) of *Quercus castaneifolia* populations in Golestan province.

گلیداغ Golidagh	لوه Loveh	علی‌آباد Aliabad	توسکستان Tosekestan	جمعیت Population
0.922	0.925	0.908	1	توسکستان Tosekestan
0.931	0.926	1	0.096	علی‌آباد Aliabad
0.826	1	0.077	0.078	لوه Loveh
1	0.191	0.072	0.081	گلیداغ Golidagh



شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای نشانگر پراکسیداز شاخه جمعیت‌های بلندمازو در استان گلستان (T= توسکستان، AL= علی‌آباد، LO= لوه و GL= گلیداغ).

Figure 2. Cluster analysis dendrogram of peroxidase marker of the branch of *Quercus castaneifolia* populations in Golestan province (T=Tosekestan, AL=Aliabad, LO=Loveh and GO=Golidagh).



شکل ۳- نمودار دوبعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی برای چهار جمعیت بلندمازو با استفاده از نشانگر پراکسیداز در استان گلستان.

Figure 3. Two-dimensional diagram resulted from Principle Coordinate Analysis for four *Quercus castaneifolia* populations by the use of peroxidase marker in Golestan province.

با توجه به نتایج حاصل از تنوع اکوتیپی بلندمازو در گرادیان خشکی استان گلستان بر اساس نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز، چهار جمعیت مورد مطالعه به لحاظ پارامترهای تنوع ژنتیکی مورد بررسی با هم متفاوت بودند (جدول ۲) که علت را می‌توان خواستگاه‌های اکولوژیک بلندمازو و وجود تنوع در مجموعه عوامل اکولوژیک مانند اقلیم و عوارض جغرافیایی مثل ارتفاع از سطح دریا و هم‌چنین وجود رقابت با سایر گونه‌ها در این چهار جمعیت عنوان کرد (۳۲، ٤۲). نتایج این پژوهش نشان داد که میزان هتروزیگوتی از سمت جمعیت‌های اصلی بلندمازو در غرب استان به سمت جمعیت‌های مرزی در شرق استان کاهش می‌یابد که علت آن احتمالاً به کاهش جریان ژنی و یا عوامل دیگر ارتباط داشته باشد. مطالعات مشابه بر روی بلوط چوب‌پنبه در اروپا نیز نشان از بیش‌تر بودن میزان هتروزیگوتی در جمعیت‌های خوب بلوط چوب‌پنبه در اسپانیا (۸) در مقایسه با جمعیت‌های مرزی این بلوط در اروپا دارد (۱۸). در مطالعه ایزوآنزیمی جمعیت‌های *Q. robur* و *Q. petraea* در اروپای مرکزی و شرقی، متوسط تعداد آلل در هر لوکوس جمعیت‌های *Q. robur* بین ۱/۸ و ۲/٦ و در جمعیت‌های *Q. petraea* بین ۲ تا ۳ بود که میزان این دو ویژگی بالاتر از بلوط بلند مازو ایران بود (۱۲). هم‌چنین مطالعات ژنتیکی بر روی هشت گونه بلوط اروپایی (۳۰)، بلوط ژاپنی *Quercus mongolica var. crispula* (۲۸)، پنجاه جمعیت *Q. variabilis* در آسیای شرقی (۵)، پنج گونه بلوط همیشه‌سبز شامل *Q. ilex*، *Q. coccifera*، *Q. afares*، *Q. canariensis* و *Q. suber* در بخش غربی تونس (۳٦) و سی جمعیت طبیعی گونه *Q. acutissima* در چین (٤۲) و مقایسه آن با نتایج حاصل از این پژوهش، به نظر می‌رسد تنوع ژنتیکی و اکوتیپی در جمعیت‌های گونه‌های مختلف جنس بلوط اروپایی و سایر کشورها، بیش‌تر از جمعیت‌های گونه بلندمازو در استان گلستان است که علل آن را احتمالاً باید در کمی جریان ژنی به‌علت کوچکی و جدا افتادن جمعیت‌های موجود بلندمازو و تخریب‌های گذشته توده‌های این گونه باارزش جستجو نمود. هم‌چنین

مقایسه مقادیر پارامترهای تنوع ژنتیکی در این پژوهش با نتایج حاصل از مطالعه رئیسی و همکاران (۲۰۱۱) بر روی تنوع ژنتیکی بلندمازو در استان مازندران نشان می‌دهد که تنوع آللی و هتروزیگوتی در جمعیت‌های بلندمازو در استان مازندران بیش‌تر از جمعیت‌های این گونه در استان گلستان است (۳۲). بر اساس نتایج این پژوهش تنوع در رویشگاه توسکستان و سپس علی‌آباد قابل‌توجه است و به سمت رویشگاه لوه و گلیداغ کاهش می‌یابد (جدول ۲)؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که تنوع در طول گرادیان غربی-شرقی از مازندران به‌طرف شرق استان گلستان به‌طور منظمی کاهش می‌یابد. وجود تنوع بیش‌تر برای این گونه در رویشگاه‌های غرب استان گلستان نسبت به لوه و گلیداغ می‌تواند نشان‌دهنده کاهش جریان ژنی از طریق گرده از غرب استان گلستان به سمت لوه به‌علت نزدیک‌شدن به مرزهای پراکنش شرقی گونه بلندمازو و هم‌چنین شرایط مساعدتر رقابت گونه‌ای، شرایط اکولوژیک و جغرافیایی به‌نفع بلوط در منطقه لوه باشد. اما در رویشگاه گلیداغ به‌علت شرایط نامساعدتر اکولوژیک انتظار افزایش تنوع می‌رفت که با توجه به جدایی جغرافیایی این رویشگاه از جمعیت‌های اصلی بلوط در استان گلستان چنین امری میسر نشده است. لازم به ذکر است که استان گلستان، با توجه به موقعیت جغرافیایی، تحت‌تأثیر طول و عرض جغرافیایی، رشته‌کوه‌های البرز، دوری و نزدیکی به دریا، وزش بادهای محلی و ناحیه‌ای و پوشش متراکم جنگل، آب‌وهوای گوناگونی دارد به‌طوری‌که با حرکت از غرب به شرق استان به علت دوری از اثرات دریای خزر و کاهش ارتفاعات البرز با خشکی و گرمای هوا مواجه است و در مناطق شرقی استان (گلیداغ) میزان بارندگی سالانه اندک است و به‌علت افزایش گرما رطوبت هوا کاهش می‌یابد با توجه به این نکته و هم‌چنین نیازهای اکولوژیک بلندمازو از جمله نیمه رطوبت پسند بودن آن، احتمالاً عدم ضخامت خاک مناسب و مرطوب و سایر عوامل اکولوژیک، مانع توسعه و احیای این گونه شده است و تنوع ژنتیکی آن در این مناطق کاهش یافته است (۲۷). در پژوهشی نیز به‌منظور بررسی تأثیر ارتفاع و توپوگرافی بر تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Q. serrate* در کوهستان‌های چی‌چی‌بو در مناطق مرکزی ژاپن با استفاده از نشانگر ریزماهواره، هتروزیگوتی مشاهده‌شده بین ۰/٦۳۸ و ۰/۸٤٤ بود و این مقدار برای جمعیت‌های کنار آب نسبت به جمعیت‌های واقع در قله یا دامنه کوه بیش‌تر بود. نتایج این پژوهش به این اشاره دارد که احتمالاً فقدان خاک مرطوب، مانع توسعه و احیای *Q. serrata* و عامل کاهش تنوع ژنتیکی در مناطق خشک کاهش است (۲۷). از طرفی به‌نظر می‌رسد که به علت جدایی جغرافیایی صورت گرفته بین رویشگاه‌های بلندمازو در گرادیان غربی- شرقی استان گلستان تحت‌تأثیر دخالت‌های انسانی و هم‌چنین موقعیت قرارگیری این رویشگاه‌های باقی‌مانده به لحاظ یال و دره، امکان تبادل ژن از طریق گرده به‌وسیله باد به حداقل رسیده است. به‌طور کل به نظر می‌رسد این امر موجب شده تا در این گرادیان، تنوع ژنتیکی بلندمازو کاهش یابد. چنین نتایجی در خصوص تعداد آلل کل، آلل مشاهده‌شده و آلل مؤثر نیز قابل‌مشاهده است.

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)، تفاوت معنی‌داری در سطح خطای کم‌تر از ۱ درصد بین تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها وجود داشت و سهم تنوع درون جمعیت‌ها (۵۹ درصد) بیش‌تر از تنوع بین جمعیت‌ها (٤۱ درصد) است (جدول ۳). علت این امر را می‌توان باد گرده‌افشان بودن این گونه عنوان کرد (٦، ۳۲، ۲٤، ۳۷). این نوع سیستم گرده‌افشانی با انتقال گرده منجر به انتقال ژن‌ها بین جمعیت‌ها و درنتیجه کاهش تنوع بین آن‌ها

می‌گردد که البته انتقال بذر در مورد بلوط‌ها به علت سنگین بودن بذر آن‌ها صدق نمی‌کند؛ بنابراین مشاهده می‌شود که تبادل جریان ژنی بین رویشگاه‌های این پژوهش به علت جدایی جغرافیایی و از بین رفتن توده‌های بینابینی کاهش یافته است که درنتیجه تنوع بین جمعیتی درصد بالایی را به‌خود اختصاص داده است. رئیسی و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تنوع ژنتیکی بلندمازو با استفاده از پراکسیداز و هم‌چنین علیخانی و همکاران (۲۰۱٤) در بررسی تنوع ژنتیکی مازودار و وی‌ول، شعبانیان و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه تنوع درون و بین جمعیتی نه جمعیت بلوط ایرانی (*Q. brantii*) واقع در بخش شمالی جنگل‌های زاگرس و هم‌چنین شعبانیان و همکاران (۲۰۱٦) در مطالعه تمایز و تنوع ژنتیکی بین و درون هشت جمعیت مختلف بلوط ایرانی با شرایط رویشگاهی متفاوت از جنگل‌های ایلام نتیجه‌ای مشابه نتیجه حاصل از این پژوهش را عنوان کردند (۳۲، ۲، ۳۸، ۳۹). هم‌چنین طی بررسی تنوع آلوزایمی *Q. laevis* در ترکیه، تنوع درون جمعیتی نسبتاً بالایی برای این گونه گزارش شد امّا تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌ها کم بود (٤). در بررسی تنوع آلوزایمی ١٤ جایگاه ژنی از ١٩ جمعیت *Q. petraea*، *Q. cerris*، *Q. pubescens* و *Q. robur* در شرق استرالیا نیز میانگین تنوع درون جمعیتی نسبت به بین جمعیتی بیش‌تر بود (۳۷). هم‌چنین طبق نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) در بررسی ساختار ژنتیکی ١٤ توده *Q. macrocarpa* Mich. در امریکا، بیش از ۹۷ درصد تنوع ژنتیکی مربوط به درون توده‌ها و کم‌تر از ۳ درصد تنوع ژنتیکی مربوط به میان توده‌ها بود (٦). در مطالعه تنوع مولکولی و مورفولوژیکی ۵۵ پایه از بلوط ایرانی (*Quercus branti* Lindl.) در هشت منطقه واقع در استان چهارمحال و بختیاری با استفاده از نشانگرهای AFLP، ریزماهواره کلروپلاست cpSSR و مورفولوژی برگ نیز سهم تنوع درون جمعیت‌ها (٦٦ درصد) بیش‌تر از تنوع بین جمعیت‌ها (٣٤ درصد) بود (٤٠). به‌طورمعمول، گونه‌های بلوط که دگرگشنی آن‌ها بالا است از تنوع ژنتیکی درون جمعیتی بالا و تنوع بین جمعیتی پایینی برخوردار هستند (۳۸).

طبق نتایج حاصل از ماتریکس نئی و نمودار دوبعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی برای چهار جمعیت بلندمازو، بیش‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۱۹۱) و کم‌ترین شباهت ژنتیکی (۰/۸۲٦) نیز بین دو جمعیت لوه و گلیداغ مشاهده شد که بیانگر تفاوت بیش‌تر به لحاظ ساختار اکوتیپی در بین این دو رویشگاه نسبت به سایر رویشگاه‌ها برای گونه بلندمازو است (جدول ٤). با توجه به اختلاف ارتفاع از سطح دریای این دو جمعیت از هم (جدول ۱)، احتمالاً این اختلاف و نبود جریان ژنی به علت جدایی جغرافیایی موجب ایجاد اختلاف ژنتیکی بین این دو رویشگاه شده است. رئیسی و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تنوع ژنتیکی بلندمازو با استفاده از پراکسیداز نیز علت تنوع و اختلاف بین رویشگاه‌ها را اختلاف ارتفاع، اقلیم و اکولوژی رویشگاه‌ها بیان کردند (۳۲). هم‌چنین کم‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۰۷۲) و به‌تبع آن بیش‌ترین شباهت ژنتیکی (۰/۹۳۱) بین دو جمعیت علی‌آباد و گلیداغ مشاهده شد (جدول ٤). این مطلب نشان‌دهنده این موضوع می‌تواند باشد که در گذشته‌های دور جریان ژنی از طریق تبادل گرده بین جمعیت‌های جلگه‌ای از بین رفته رویشگاه علی‌آباد با جمعیت‌های همجوار تا گلیداغ ادامه داشته است که امروزه با گسترش شهرها و روستاها تمامی جمعیت‌های جلگه‌ای و به‌تبع آن این ارتباط (جریان ژنی) از بین رفته است. چنین شباهت‌های ژنتیکی بین رویشگاه‌ها در گروه‌بندی دندروگرام تجزیه خوشه‌ای و نمودار تجزیه به مختصات اصلی برای چهار

جمعیت بلندمازو در گرادیان غربی-شرقی استان گلستان، نشان می‌دهد که یک جریان ژنی بین این چهار جمعیت در زمان‌های گذشته وجود داشته است و به لحاظ ساختار ژنتیکی نمی‌توان این چهار جمعیت را به‌صورت اکوتیپ‌های جدا از هم تفکیک نمود (شکل‌های ۲ و ۳). به‌طورکلی تأثیر عوامل انسانی از قطع یکسره توده‌های بلوط در جلگه به‌منظور توسعه شهرها، روستاها و به‌خصوص زمین‌های کشاورزی و هم‌چنین قطع و بهره‌برداری‌های دولتی و غیردولتی انجام‌شده منجر به کوچک شدن جمعیت‌های بلندمازو، جدایی آن‌ها از یکدیگر و کاهش تنوع ژنتیکی توده‌های این گونه شده‌اند.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد که تنوع اکوتیپی در گرادیان غربی-شرقی رویشگاه‌های مختلف استان گلستان کاهش یافته و در گذشته‌های دور جریان ژنی از طریق جمعیت‌های همجوار برقرار بوده است به‌طوری‌که اکوتیپ‌ها کاملاً قابل‌تفکیک از یکدیگر نیستند؛ بنابراین با توجه به تغییرات اقلیمی در پیش‌رو و شباهت‌های ژنتیکی اکوتیپ‌های موجود در گرادیان غربی-شرقی گونه بلندمازو در استان گلستان و تعیین میزان تنوع موجود باید در ابتدا نسبت به حفظ و افزایش این تنوع اقدامات لازم مانند شناسایی پایه‌های شاخص، جلوگیری از برداشت بی‌رویه و کمک به تجدید حیات طبیعی اقدام کرد. هم‌چنین برای افزایش تنوع در رویشگاه‌های با تنوع کم‌تر می‌توان از بذور جمعیت‌های همجوار بهره برد. به‌ویژه لازم است برای احیاء و افزایش تنوع در دو جمعیت لوه و گلیداغ از بذر پایه‌های شاخص هر جمعیت یا جمعیت‌های همجوار استفاده شود و به حفاظت ژنتیکی دو جمعیت لوه و گلیداغ توجه بیش‌تری شود.

منابع

1. Ali Ahmad Korori, S. 1999. Investigation on responses of forest trees enzymes to alteration of environmental factors. Research Institute of Forests and Rangelands. Press, 333p. (In Persian)
2. Alikhani, L., Rahmani, M.S., Shabanian, N., and Badakhshan, H. 2014. Genetic diversity assessment of *Quercus infectoria* and *Q. libani* populations in North-Zagros forests based on ISSR and IRAP markers. Iranian J. of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 22: 1. 79-90. (In Persian)
3. Babaie, F., Jalali, S.G., and Azadfar, D. 2010. Genetic variation investigation on *Zelkova carpinifolia*, from three Iranian north lowland habitats using leaf peroxidase. Iranian J. of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 18: 1. 83-92. (In Persian)
4. Berg, E.E., and Hamrick, J.L. 1993. Regional genetic variation in Turkey oak, *Quercus laevis*. Canadian J. of Forest Research. 23: 7. 1270-1274.
5. Chen, D.M., Zhang, X.X., Kang, H.Z., Sun, X., Yin, S., Du, H.M., Yamanaka, N., Gapare, W., Wu, H.X., and Liu, C.J. 2012. Phylogeography of *Quercus variabilis* based on chloroplast DNA sequence in East Asia: multiple glacial refugia and Mainland-Migrated island populations. Open Access Scientific J. of Public Library of Science ONE. 7: 10. e47268.
6. Craft, J., and Ashley, V. 2007. Landscape genetic structure of bur oak (*Quercus macrocarpa*) savannas in Illinois. Forest Ecology and Management. 239: 13-20.
7. Ebermann, R., and Stich, K. 1982. Peroxidase and amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees. Phytochemistry. 21: 2401-2402.
8. Elena-Rossello, J.A., and Cabrera, E. 1996. Isozyme variation in natural

populations of Cork-Oak (*Quercus suber* L.). Silva Genetica. 45: 4. 229-235.
9. Fallah, H., Tabari, M., and Azadfar, D. 2011. Determination ecotypes of *Populus caspica* Bornm. In plain communities of Caspian forests using morphological markers of leaf and peroxidase isoenzymes. Taxonomy and Biosystematics. 3: 6. 48-57. (In Persian)
10. Ghandehari, V., Ahmadikhah, A., and Payamnoor, V. 2013. Genetic diversity of *Buxus hyrcana* populations in north of Iran using ISSR markers. Iranian J. of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 21: 1. 1-12. (In Persian)
11. Ghelichkhani, M.M., Tabari, M., Akbarinia, M., and Espahbodi, K. 2006. Influence of light intensity and root pruning on growth. Pajouesh and Sazandegi. 66: 2-7. (In Persian)
12. Gomory, D., Yakovlev, I., Zhelev, P., Jedinakova, J., and Paule, L. 2001. Genetic differentiation of oak populations within the *Quercus robur* / *Quercus petraea* complex in Central and Eastern Europe. The Genetics Society of Great Britain. 86: 557-563.
13. Hafezi Shahrudiyan, S. 2010. Genetic diversity of *Cupressus sempervirens* in stands of north of Iran using molecular and biochemical markers. M.Sc. thesis, Forestry and Wood Technology Faculty, Gorgan University of Agricultural and Natural Resources Sciences, 188p. (In Persian)
14. Hampe, A., and Petit, RJ. 2005. Conserving biodiversity under climate change, the rear edge matters. Ecology Letters. 8: 461-467.
15. Hamrick, J.L., and Godt, M.J.W. 1996. Conservation genetics of endemic plant species, In: Avise, J.C., Hamrick, J.L. (Eds.), Conservation Genetics: Case Histories from Nature. Chapman and Hall, New York.
16. Hatziskakis, S., Tsiripidis, I., and Papageorgiou, A.C. 2011. Leaf morphological variation in beech (*Fagus sylvatica* L.) populations in Greece and its relation to their post-glacial origin. Botanical J. of the Linnean Society. 165: 422-436.
17. Jiang, Zh., Yuxia, Ch., and Ying, B. 2012. Population genetic structure of *Tamarix chinensis* in the Yellow River Delta, China. Plant Systematics and Evolution, 298: 147-153.
18. Jimenez, P., Agundez, D., Alla, R., and Gil, L. 1999. Genetic variation in central and marginal populations of *Quercus suber* L. Silvae Genetica. 48: 6. 278-284.
19. Karimi, L., and Azadfar, D. 2011. Consideration and comparison of genetic diversity of English yew species (*Tamarix baccata* L.) by using branch and leaf peroxidase. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 18: 2. 227-238. (In Persian)
20. Kiyani, B. 2005. Forest genetic (Development of tree and forest). Haghshenas Press, Rasht, 212p. (In Persian)
21. Mahmoodi Zarinabadi, M.B., Azadfar, D., and Saeedi, Z. 2014. Comparison of the efficiency of leaf morphological and peroxidase isozyme markers in segregation of *Fagus orientalis* Lipsky plus and non-plus trees in Shastkalate forest-Gorgan. J. of Wood and Forest Science and Technology. 20: 4. 197-210. (In Persian)
22. Mirderikvand, M., Nematzadeh, Gh.A., Alami, A., and Ghereh yazi, B. 2005. Study of the genetic diversity of Iranian rice using Isozyme markers. Iranian J. of Agriculture sciences. 35: 143-153. (In Persian)
23. Monerri, C., and Guardiola, J. 2001. Peroxidase activity and isoenzyme profile in buds and leaves in relation to flowering in Satsuma mandarin. Scientia Horticulturae. 90: 1-2. 43-56.
24. Naderi Shahab, M.A. 2013. Iran oaks. Azad Peyma Press, Tehran, 305p. (In Persian)
25. Neale, D.B., and Kremer, A. 2011. Forest tree genomics: growing resources and applications. Nature Reviews Genetics. 12: 111-122.
26. 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.

27. Ohsawa, T., Saito, Y., Sawada, H., and Ide, Y. 2008. Impact of altitude and topography on genetic diversity of *Quercus serrate* populations in the Chichibu Mountains, central Japan. Flora–Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants. 203: 187-196.
28. Okaura, T., Quang, N.D., Ubukata, M., and Harada, K. 2007. Phylogeographic structure and late quaternary population history of the Japanese oak *Quercuse mongolica* var. *crispula* and related species revealed by chloroplast DNA variation. Genes and Genetic Systems. 82: 465-477.
29. Peakall, R., and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6.2: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6: 288-295.
30. Petit, R.J., Csaikl, U.M., Bordacs, S., Burg, K., Coart, E., Cottrell, J., Dam, B.V., Deans, J.D., Dumolin-Lapegue, S., Fineschi, S., Finkeldey, R., Gillies, A., Glaz, I., Goicoechea, P.G., Jensen, J.S., Konig, A.O., Lowe, A.J., Madsen, S.F., Matyas, G., Munro, R.C., Olalde, M., Pemonge, M., Popescu, F., Slade, D., Tabbener, H., Taurchini, D., Vries, S.G., Ziegenhagen, B., and Kremer, A. 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks phylogeography and patterns of diversity based data from over 2600 populations. Forest Ecology and Management. 156: 5-26.
31. Rahmani, A., Seighali, N., and Ebrahimzadeh, H. 2014. Exploring the changes of peroxidase activity in different concentrations of H_2O_2 and different amounts of pH in Saffron in sleep-wake. New Cellular and Molecular Biotechnology J. 3: 10. 79-84. (In Persian)
32. Reisi, Sh., Jalali, S.Gh.A., and Espahbodi, K. 2011. An investigation of genetic variation of (*Quercus castaneifolia* C.M Mey) in Neka and Noor forest of Mazandaran using peroxides activities. Taxonomy and Biosystematics. 3: 7. 11-22. (In Persian)
33. Rohlf, F.J. 1998. NTSYS-pc ver. 2.02. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Publishing, Setauket.
34. Ruhimoghadam, A., Hoseini, S.M., Ebrahimi, A., Rahmani, A., and Tabari, M. 2008. The effect of mixing rates on qualitative and quantitative characteristics of oak-Zelkova plantation. Pajouesh va Sazandgi. 77: 155-168. (In Persian)
35. Sabeti, H. 2004. Trees and shrubs of Iran. Yazd University Press, 876p. (In Persian)
36. Sakka, H., Baraket, G., Abdessemad, A., Tounsi, K., Ksontini, M., and Salhi-Hannachi, A. 2015. Molecular phylogeny and genetic diversity of Tunisian *Quercus* species using chloroplast DNA CAPS markers. Biochemical Systematic and Ecology. 60: 258-265.
37. Samuel, R., Pinsker, W., and Ehrendorfer, F. 1995. Electrophoretic analysis of genetic variation within and between populations of *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. petraea* and *Q. robur* (Fagaceae) from Eastern Austria. Botanica Acta. 108: 4. 290-299.
38. Shabanian, N., Alikhani, L., and Rahmani, M.S. 2015. Phenotypic and genotypic diversity in brant oak (*Quercus brantii*) populations of declining north-Zagros forests using biochemical characteristics and molecular SCoT marker. Iranian J. of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 23: 1. 13-29. (In Persian)
39. Shabanian, N., Havasi, A., and Mehrabi, A.A. 2016. Genetic differentiation in Persian oak (*Quercus brantii*) populations using genomic inter-microsatellite markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 24: 1. 66-78. (In Persian)
40. Shiran, B., Mashayekhi, S., Jahanbazi, H,. Soltani, A., and Bruschi, P. 2011. Morphological and molecular diversity among populations of *Quercus brantii* Lindl. In western forest of Iran. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology: Official J. of the Societa Botanica Italiana. 145: 2. 452-460.

41. Whitham, T.G., Bailey, J.K., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., Bangert, R.K., LeRoy, C.J., Lonsdorf, E.V., Allan, G.J., DiFazio, S.P., Potts, B.M., Fischer, D.G., Gehring, C.A., Lindroth, R.L., Marks, J.C., Hart, S.C., Wimp, G.M., and Wooley, S.C. 2006. A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. Nature Reviews Genetics. 7: 510-523.

42. Zhang, X., Li, Y., Liu, C., Xia, T., Zhang, Q., and Fang, Y. 2015. Phytogeography of the temperate tree species *Quercus acutissima* in China: Inferences from chloroplast DNA variations. Biochemical Systematic and Ecology. 63: 190-197.