فصلنامهٔ علمی پژوهش و توسعه جنگل
جلد ۷، شماره ۳، صفحه ۴۰۱-۳۸۷، (۱۴۰۰)

DOI: 10.30466/jfrd.2021.121106
DOR: 20.1001.1.24763551.1400.7.3.4.9

مقالهٔ پژوهشی

بررسی تنوع ژنتیکی نوش (*Thuja orientalis*) با استفاده از نشانگر پراکسیداز در ذخیره‌گاه جنگلی سورکش

معصومه خزائی پول*[1]، داوود آزادفر[2] و زهره سعیدی[3]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. (khazaeimasoomeh65@yahoo.com)
۲- دانشیار گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. (azadfar@gau.ac.ir)
۳- کارشناس اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان گلستان، گرگان، ایران. (Saeedizohre@gmail.com)

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۲/۱۹

چکیده

هدف این پژوهش تعیین و مقایسه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های نوش در ذخیره‌گاه جنگلی سورکش به‌کمک چندشکلی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز در دو اندام شاخه و فلس بود. نمونه‌برداری به‌طور همزمان از فلس و شاخه دوساله ۳۰ پایه نوش از سه جمعیت انجام شد. نمونه‌ها از ارتفاع میانه تاج و از جهت ثابت جنوبی تاج انتخاب شدند. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها به‌کمک نرم‌افزار GenAlEx در خصوص ویژگی‌های آللی نشانگرهای مورد پژوهش و مقایسه توانایی دو اندام و گروه‌بندی پایه‌ها برای بررسی تنوع درون و بین جمعیتی توسط تحلیل خوشه‌ای داده‌های الکتروفورتیکی (ژل‌های تهیه‌شده) توسط نرم‌افزار NTSYS 2.02 انجام شد. بررسی کیفی با الکتروفورز عمودی به‌روش PAGE انجام شد و داده‌های الکتروفورتیکی پایه‌های هر منطقه به‌کمک تحلیل خوشه‌ای گروه‌بندی شدند. با توجه به‌نتایج، جمعیت دو با میانگین تعداد آلل مشاهده شده در هر جایگاه ژنی (۲)، میانگین تعداد آلل مؤثر (۱/۷۷)، هتروزیگوتی قابل انتظار (۰/۴۲) و درصد پلی‌مورفیسم (۱۰۰) دارای بیشترین شاخص‌های تفکیک آللی نسبت به دو جمعیت دیگر است. همچنین تنوع درون‌جمعیتی (حدوداً ۶۰) بیشتر از تنوع بین‌جمعیتی (حدوداً ۴۰) به‌دست آمد که باید در مدیریت این ذخیره‌گاه برای افزایش تنوع مدنظر قرار گیرد. همچنین اندام فلس در نوش با میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده در هر جایگاه ژنی (۱/۴۸)، میانگین تعداد آلل مؤثر (۱/۴۹)، هتروزیگوتی قابل انتظار (۰/۲۷)، میانگین شاخص اطلاعات شانون (۰/۳۹)، تعداد باند (۹) و درصد چندشکلی (۶۶/۶۷) نسبت به ویژگی‌های آللی اندام شاخه دارای مقادیر بیشتری در پژوهش‌های تنوع ژنتیکی است.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز، تنوع درون‌جمعیتی، سورکش، نشانگر بیوشیمیایی.

---

* نویسنده مسئول شمارهٔ تماس: ۰۹۳۳۶۲۵۰۲۷۱

مقدمه

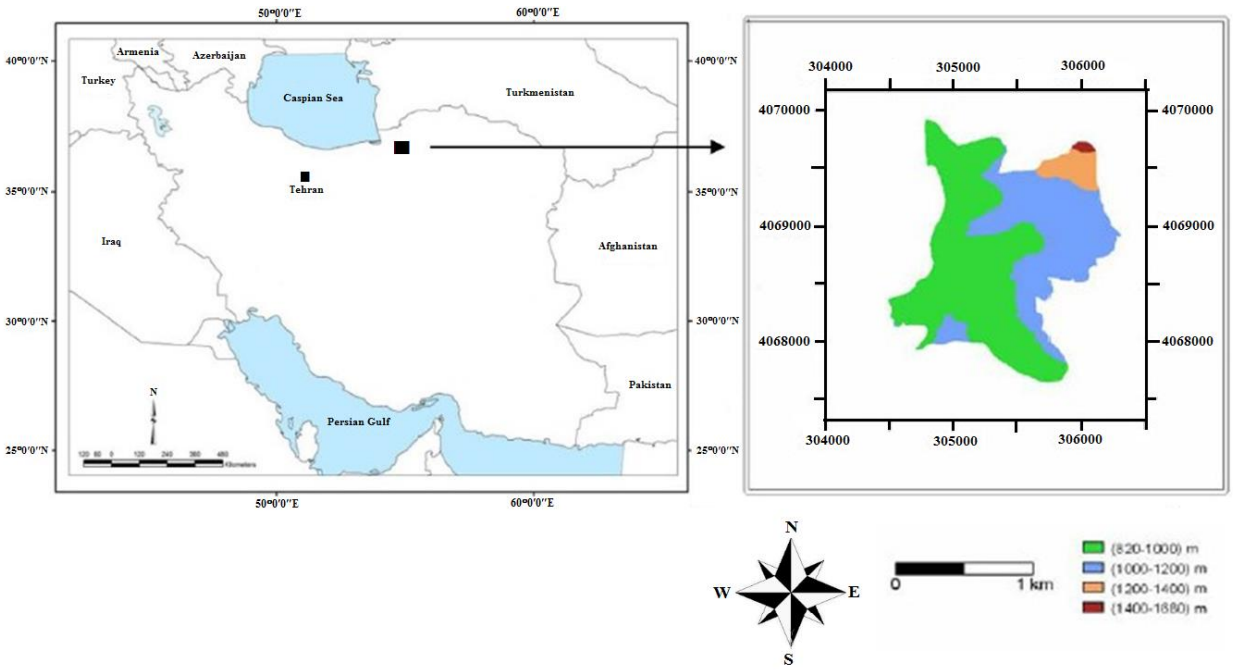
سروخمره‌ای یا نوش درختی از شاخه پیدازادان، رده بازدانگان، راسته مخروطیان، تیره سرو، جنس نوش با نام علمی *Thuja orientalis L.* است (Mozaffarian, 2004). نوش به‌شکل درختانی به ارتفاع تا ۱۰ متر، یا درختچه‌هایی با تاج هرمی‌شکل و مخروط‌مانند یا بوته‌ای یک‌پایه با شاخه‌های گسترده و تنه‌ای از نزدیک قاعده منشعب دیده می‌شوند (Ghahraman, 2000). نوش به‌خاطر زیبا و تزئینی بودن در فضای سبز شهری و پارک‌ها به فراوانی کشت شده و نیز به‌دلیل چوب محکم و مقاوم در برابر فساد آن، دارای اهمیت خاصی در بین درختان جنگلی است. از طرفی به‌خاطر انتشار محدود و حفظ ارزش‌های ژنتیکی این گونه در زیستگاه‌ها، نیاز به حمایت همه‌جانبه دارد (Imam, 2003). از جنس نوش در ایران فقط یک گونه بومی با نام فارسی نوش وجود دارد که در بیشتر نقاط ایران به‌عنوان درختچه زینتی کاشته می‌شود. این گونه نسبت به شرایط نامساعد به‌ویژه خشکی و سرما مقاومت داشته و منشأ اولیه آن مناطق معتدل آسیا و رویشگاه عمده آن کشور چین است، ولی در ایران نیز پایه‌هایی از آن به‌صورت وحشی در جنگل‌های خزری دیده می‌شود (Sabetti, 2002). رویشگاه سورکش تنها رویشگاه طبیعی نوش در ایران است که در تمامی منابع مرتبط ذکر شده است و تمام مدارک بر طبیعی‌بودن آن تأکید دارد (Zulfaqhar, 2010). رویشگاه طبیعی دیگر در منطقه سنگده در فاصله ۲۵ کیلومتری مرکز شهرستان سوادکوه پل سفید واقع شده است که درحال حاضر تنها پنج پایه کهنسال از درختان نوش در جدار دره رودخانه گسیلیان و در ارتفاع ۱۳۰۰ متری از سطح دریا دیده می‌شود (Zulfaqhar, 2009). رویشگاه‌های طبیعی این گونه نه‌تنها در ایران بلکه در دنیا کمیاب و نادر است. بنابراین جایگاه ویژه‌ای در بین ذخایر جنگلی کشور دارد و یکی از منحصربه‌فردترین جنگل‌های کشور به‌شمار می‌رود (Zulfaqhar, 2010). برگ‌های نوش حاوی روغن‌های ضروری است که برای درمان عفونت‌های قارچی، سرطان، خال و کرم‌های انگلی استفاده می‌شود. اسانس حاصل از برگ‌ها سمی است. α-thujone به‌عنوان یک حشره‌کش و یک ماده ضد انگل برای درمان کرم‌های انگلی مفید است. با این حال، α-thujone یک ماده سمی است که سیگنال‌های عصبی مغز را مختل می‌کند (Hold et al., 2000). وجود تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های یک گونه به حفظ تنوع جمعیت‌ها و یافتن پایه‌های مادری برتر برای ذخایر بذری کمک می‌کند (Karimi and Azadfar, 2009). تنوع در جنگل‌ها و گوناگونی ژنتیکی در درختان و درختچه‌ها برای سازگاری مستمر گونه‌ها به شرایط محیطی و نیز برای حفظ توان اصلاح ویژگی‌های مورد نظر انسان ضروری است (Salehi shanjani and Sagheb talebi, 2006). بررسی‌های بیوشیمیایی و استفاده از آنزیم‌ها می‌تواند به‌عنوان مکمل نشانگرهای ریختی، تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی را با دقت مطمئن‌تری نشان دهد (Fallah et al., 2011). نشانگرهای مورفولوژیکی و ایزوآنزیمی به‌علت مزایای متعدد مانند سادگی، کارآیی نسبی، سرعت زیاد و هزینه مناسب از ابزارهای مناسب برای پژوهش‌های مقدماتی تنوع ژنتیکی هستند (Sulkowska, 2012). آنزیم پراکسیداز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌ها، در سیر تحولات فیزیولوژیک گیاهان است که در بسیاری از تحقیقات به‌عنوان شاخص تغییرات اکولوژیک در درون گیاه معرفی شده است (Grambow and Langebeck, 1983). آنزیم پراکسیداز (EC 1.11.1.X) از گروه آنزیم‌های اکسیدوردوکتازبوده و از دسته پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود و به‌دلیل تعدد باندها و امکان وضوح باندهای ایزوآنزیمی یکی از مناسب‌ترین نشانگرها برای تفکیک ژنتیکی

درختان است (Babaei et al., 2010). تحقیقی توسط Perry et al. (1990) روی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی شش جمعیت از *Thuja occidentalis* در شمال غربی آنتاریو در کانادا با استفاده از الکتروفورز آنزیم مورد بررسی قرار شد. محدوده هتروزیگوتی جمعیت‌ها بین ۰/۰۷۷ تا ۰/۱۰۹ با میانگین ۰/۰۹۴ بود. تحقیقی توسط Xie et al. (1992) روی تنوع ژنتیکی نوش انجام شد که تنوع الکتروفورزی آنزیم را در ۱۴ جمعیت از رویشگاه طبیعی نوش در چین مورد بررسی قرار دادند. به‌طور متوسط، تعداد آلل در هر جایگاه ۱/۸۹ بود، درصد چندشکلی ۵۷/۰۰ بود و هتروزیگوتی مورد انتظار ۰/۱۴۴ بود. تنوع درون جمعیتی ۸۶ درصد و تنوع بین جمعیتی ۱۴ درصد به‌دست آمد. Lamy et al. (2011) تنوع ژنتیکی و ساختار ژنتیکی شش جمعیت از *Thuja occidentalis* را در جنوب کبک کانادا با استفاده از الکتروفورز ژل استات سلولز مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد میانگین درصد چندشکلی ۵۴/۲ درصد، میانگین آلل مشاهده شده در هر جایگاه ۱/۶، میانگین آلل موثر ۱/۱۵، هتروزیگوتی مشاهده شده ۰/۱۱۶ و هتروزیگوتی مورد انتظار ۰/۱۲۹ بود. هیچ تفاوت معنی‌داری بین شش جمعیت برای این پنج شاخص ژنتیکی وجود نداشت. Wahid et al. (2010) تنوع ژنتیکی ۱۴ جمعیت از *Pinus halepensis Mill* را با استفاده از یک نشانگر ایزوآنزیمی بررسی کردند. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تنوع ژنتیکی کاج حلب در مراکش در مقایسه با دیگر استان‌های مدیترانه‌ای متوسط است. با این حال، این پژوهش ضریب بالایی از تمایز بین جمعیت را نشان می‌دهد. Seok-Woo et al. (2003) تنوع ژنتیکی را در *Thuja orientalis* در ۱۲۰ پایه از چهار جمعیت طبیعی در شمال کره بررسی کردند. مشاهدات نشان داد که مقدار تنوع ژنتیکی پایین (He=۰/۰۹۵، HO=۰/۰۸۱) است. Salehi Shanjani (2001) فعالیت کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز را در سرخدار جنگل‌های استان گلستان و ارسباران مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که فعالیت کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز در درختان مستقر در جنگل‌های گرگان به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای بیشتر از ارسباران است. Karimi (2009) تنوع ژنتیکی را در گونه سرخدار توسط دو نشانگر پراکسیداز و استراز و به‌کمک دو اندام شاخه و برگ بررسی کرده و به معرفی بهترین اندام و نشانگر در تعیین تنوع پرداخت. نتایج نشان داد که هر یک از نشانگرهای پراکسیداز و استراز، بیشترین تفکیک و گروه‌بندی به‌ترتیب به‌کمک اندام شاخه و برگ را نشان دادند. از آن‌جایی که تاکنون پژوهشی روی تنوع مورفولوژیکی و یا تنوع ژنتیکی نوش در سطح DNA یا نشانگرهای بیوشیمیایی در داخل کشور انجام نشده است و با توجه به توانایی نشانگرهای بیوشیمیایی در نشان دادن تفاوت‌های اکوتیپی و ژنوتیپی به‌طور همزمان نسبت به نشانگرهای مولکولی DNA، این پژوهش با هدف بررسی و مقایسه پلی‌مورفیسم ایزوآنزیمی پراکسیداز در اندام‌های فلس و شاخه گونه نوش برای مقایسه و معرفی اندام شاخص در مقایسه تنوع نوش در جمعیت‌های مختلف ذخیره‌گاه جنگلی سورکش فاضل‌آباد انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش در آبان ۱۳۹۳ رویشگاه سورکش انتخاب شد. رویشگاه سورکش با وسعت ۲۲۳ هکتار در ۲۰ کیلومتری جنوب فاضل‌آباد، در دره کتول در استان گلستان قرار شده است (شکل ۱). موقعیت جغرافیایی این رویشگاه حد فاصل عرض شمالی ۳۶ درجه و ۴۴ دقیقه و دو ثانیه تا ۳۶ درجه و ۴۵ دقیقه و ۱۶ ثانیه و طول شرقی ۵۴ درجه و ۴۸ دقیقه و ۳۷ ثانیه تا ۵۴ درجه و ۴۹ دقیقه و ۵۰ ثانیه قرار دارد و در

محدوده ارتفاعی ۸۲۰ تا۱۶۸۰ متری از سطح دریا قراردارد. رویشگاه نوش از شمال به کوه قزل قلعه یا جنگل پلنگ‌آرام، از جنوب به کوه الستان، از شرق به جنگل کرکوچال و از غرب به کوه سوراخ‌دار- کمر محدود می‌شود (Zulfaqhar, 2009).



شکل ۱- موقعیت منطقه سورکش در استان گلستان همراه با طبقات ارتفاعی موجود در منطقه (برگرفته شده از طرح ذخیره‌گاه جنگلی سورکش، شرکت فنی- مهندسی زیست آبنوس گلستان، تهیه توسط شعبان قلندرآیشی)

Figure 1. Location of the Sorkesh area in Golestan province along with the elevation classes in the area (Retrieved from Sorkesh Forest Reserved Plan, Golestan Abnos Bio Engineering Company, provided by Shaaban Galandar Ayeshi)

جهت باد غالب منطقه از شمال به جنوب است. در این رویشگاه نوش بیشترین حضور را در زمین‌هایی با فرم دره با ارتفاع ۹۵۰-۹۰۰ متر و در شیب ۱۵-۰ درصد و در خاک‌های عمیق دارد. تعداد در هکتار درختان نوش در این رویشگاه ۵۲۳ اصله و ۸۲ هکتار از وسعت کل منطقه پوشیده از درختان نوش با نسبت‌های آمیختگی مختلف با دیگر گونه‌های درختی و درختچه‌ای و تخریب‌های انسانی است. ذخیره‌گاه سورکش با وجود کمی مساحت، ۰/۲۹ درصد از کل گونه‌های انحصاری ایران را به‌خود اختصاص داده است که این امر بر اهمیت منطقه از نظر ذخایر ژنتیکی و حفاظت از آن تأکید دارد (Mobin, 1981). پس از بررسی رویشگاه و جداسازی عرصه مورد پژوهش از نظر وجود تیپ‌های خالص نوش و بیشترین مقدار دست‌نخوردگی، منطقه مورد نظر براساس عوارض طبیعی مانند وجود یال به سه جهت شرقی، غربی و جنوبی تقسیم و در وسط هر جهت یک جمعیت و در کل سه جمعیت در نظر شد. از هر یک از سه جمعیت ۱۰ درخت با فواصل حداقل ۱۰۰ متر از یکدیگر برای نمونه‌برداری انتخاب و شماره‌گذاری شدند. از هر درخت یک نمونه از اندام فلس و شاخه دو ساله از ارتفاع میانه تاج و از جهت ثابت جنوبی تاج گرفته شد. برای عصاره‌گیری ۰/۵ گرم از فلس‌های تازه و جوان با قیچی خرد و در هاون چینی استریل با ازت مایع کاملاً

کوبیده و به‌مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری به آن‌ها اضافه شد. شاخه‌ها را نیز با قیچی خیلی ریز کرده و پس از وزن کردن با ترازو به ازای هر ۰/۵ گرم نمونه شاخه دو میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری به آن‌ها اضافه شد. مواد شیمیایی مورد استفاده برای تهیه یک لیتر محلول عصاره‌گیری شامل تریس بیس (۱/۲ گرم)، اسید آسکوربیک (دو گرم)، بوراکس (۳/۸ گرم)، کلرید سدیم (۳/۶ گرم)، اسید اتیلن دی آمین تترااستیک (دو گرم) و پلی اتیلن گلیکول (۵۰ گرم) بود (Stich And Ebermann, 1988). نمونه‌های عصاره‌گیری شده به‌مدت ۴۸ ساعت در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا محلول عصاره‌گیری در دیواره سلول نفوذ کند و سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. قسمت رویی و شفاف که همان عصاره است درون میکروتیوب‌ها ریخته شد و برای انجام بررسی‌ها و پژوهش‌های کیفی در یخچال نگهداری شدند (Korori, 1989). پژوهش‌های کیفی آنزیم با استفاده از الکتروفورز عمودی به‌روش PAGE (پلی آکریل آمید ژل الکتروفورز (۱۲ درصد با اسیدیته هشت)) انجام شد(Azadfar, 1998). مواد شیمیایی مورد استفاده برای تهیه ژل پلی آکریل آمید شامل آکریل آمید (۱۲۰ گرم)، بیس آکریل آمید (دو گرم) و تریس (۴۵/۶ گرم) بود که این مواد در آب مقطر حل و اسیدیته آن به هشت رسانده شد، سپس با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. از هر نمونه به‌مقدار ۶۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده در چاهک تزریق شد. دستگاه الکتروفورز روی شدت ۶۰ میلی‌آمپر تنظیم شد. زمان جداسازی ایزوآنزیم‌ها حدود هشت ساعت و میزان حرکت عصاره در ژل نیز هشت سانتی‌متر بود. بعد از رنگ آمیزی ژل‌ها، از آن‌ها عکس شده شد و تمامی باندهای ظاهرشده در نرم‌افزار Excel برای تهیه زیموگرام رسم شدند. تفسیر الگوهای ایزوآنزیمی با استفاده از کددهی باندهای ایزوآنزیمی بر اساس فاصله حرکت از مبدا و همچنین حضور یا عدم حضور باند به‌صورت یک و صفر انجام شد.

در این پژوهش به‌منظور تفسیر الگوهای ایزوآنزیمی پراکسیداز و مقایسه توانایی دو اندام شاخه و فلس از تجزیه خوشه‌ای با بهترین روش (به‌روش UPGMA) و شاخص‌های شباهت (شاخص جاکارد) بر اساس ضریب کوفنتیک کمک گرفته شد. درختان با کدهای پنج کاراکتری به‌ترتیب از چپ به راست شامل نشانگر پراکسیداز (P)، اندام مورد پژوهش (شاخه= B و فلس= L)، رقم اول کد جمعیت (۱،۲،۳) و دو رقم بعدی کد درخت (۱۰،...،۰۲، ۰۱) در نرم‌افزار Excel وارد شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌کمک نرم‌افزار GenAlExنسخه ۶/۴ در خصوص ویژگی‌های آللی نشانگرهای مورد بررسی شامل تعداد آلل مشاهده شده، تعداد آلل مؤثر، میانگین شاخص اطلاعات شانون، هتروزیگوتی و مقایسه توانایی دو اندام و گروه‌بندی پایه‌ها برای بررسی تنوع درون و بین جمعیتی توسط تحلیل خوشه‌ای داده‌های الکتروفورتیکی (ژل‌های تهیه شده) به‌روش (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic) UPGMA و شاخص جاکارد توسط نرم‌افزار NTSYS 2.02 انجام شد (Yeh, 1997). مقایسه تنوع درون و بین‌جمعیتی از طریق آزمون AMOVA در نرم‌افزار GenAlEx انجام شد.

نتایج

مقایسه درون‌جمعیتی پراکسیداز شاخه

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx در خصوص ویژگی‌های آللی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز شاخه در جمعیت یک، دو و سه مطابق جدول زیر به‌دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱- ویژگی‌های آللی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز شاخه جمعیت یک، دو و سه

Table 1. Allelic characteristics of branch peroxidase biochemical marker in the population of one, two, and three

جمعیت Population	باند Band	تعداد آلل مشاهده‌شده No. of different alleles	تعداد آلل مؤثر No. of effective alleles	هتروزیگوتی Heterozygosity	شاخص اطلاعات شانون Shannon's information index	درصد چندشکلی Percentage of polymorphic loci
جمعیت یک Population one	میانگین Mean	2	1.65	0.37	0.55	100
	انحراف معیار SE	0	0.15	0.06	0.07	-
جمعیت دو Population two	میانگین Mean	2	1.57	0.35	0.53	100
	انحراف معیار SE	0	0.12	0.04	0.05	-
جمعیت سه Population three	میانگین Mean	1.66	1.5	0.28	0.41	66.7
	انحراف معیار SE	0.33	0.25	0.14	0.20	-
کل Total	میانگین Mean	1.39	1.42	0.24	0.37	66/67
	انحراف معیار SE	0.21	0.09	0.04	0.06	-

مقایسه درون‌جمعیتی پراکسیداز فلس

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx در خصوص ویژگی‌های آللی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز فلس جمعیت یک، دو و سه مطابق جدول زیر به‌دست آمد (جدول ۲). با توجه به این نتایج بیشترین پلی‌مورفیسم مربوط به جمعیت دو است.

مقایسه درون‌جمعیتی پراکسیداز شاخه و فلس

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx در خصوص ویژگی‌های آللی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز اندام شاخه و فلس جمعیت یک، دو و سه مطابق جدول زیر به‌دست آمد (جدول ۳).

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و ترسیم دندروگرام فعالیت کیفی پراکسیداز شاخه و فلس در سه جمعیت مورد پژوهش، بر اساس بهترین ضریب کوفنتیک و خط برش ترسیم‌شده و بر اساس شباهت‌های ژنتیکی، پایه‌های مورد بررسی را به سه گروه مجزا تفکیک کرد (شکل ۲). گروه اول شامل پایه‌های PBL101, PBL102, PBL206, PBL204, PBL207, PBL103, PBL201, PBL202, PBL209,

PBL210, PBL203, PBL205, PBL208، گروه دو شامل پایه‌های PBL301, PBL310, PBL308, PBL304, PBL309, PBL303, PBL305, PBL306, PBL307, PBL302، گروه سه شامل پایه‌های PBL104, PBL106, PBL107, PBL110, PBL108, PBL109, PBL105 است.

جدول ۲- ویژگی‌های آللی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز فلس جمعیت یک، دو و سه

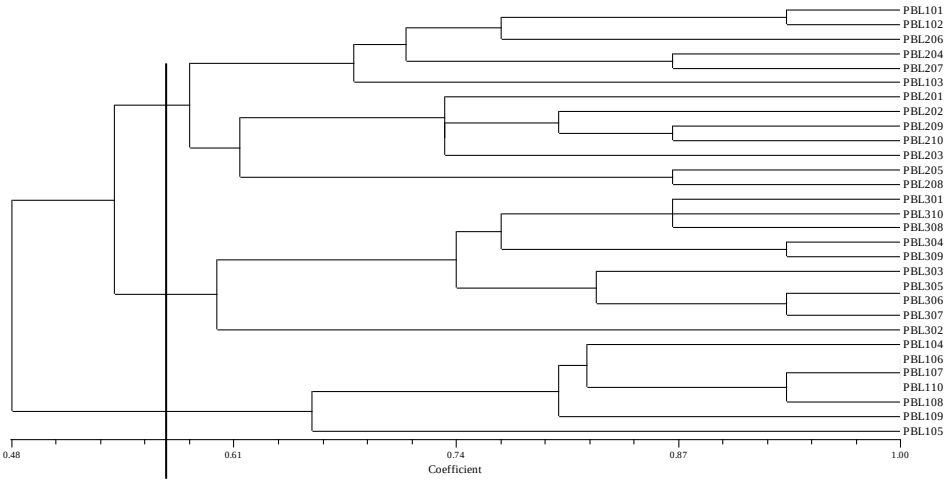
Table 2. Allelic characteristics of leaf peroxidase biochemical marker in the population of one, two, and three

جمعیت Population	باند Band	تعداد آلل مشاهده شده No. of different alleles	تعداد آلل مؤثر No. of effective alleles	هتروزیگوتی Heterozygosity	شاخص اطلاعات شانون Shannon's information index	درصد چندشکلی Percentage of polymorphic loci
جمعیت یک Population one	میانگین Mean	1.62	1.46	0.25	0.36	62.5
	انحراف معیار SE	0.18	0.16	0.08	0.11	-
جمعیت دو Population two	میانگین Mean	2	1.77	0.42	0.60	100
	انحراف معیار SE	0	0.11	0.04	0.05	-
جمعیت سه Population three	میانگین Mean	1.87	1.63	0.35	0.52	87.5
	انحراف معیار SE	0.12	0.12	0.05	0.08	-
کل Total	میانگین Mean	1.48	1.49	0.27	0.39	66.67
	انحراف معیار SE	0.15	0.08	0.04	0.05	6.42

جدول ۳- ویژگی‌های آللی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز شاخه و فلس جمعیت یک، دو و سه

Table 3. Allelic characteristics of branch and leaf's peroxidase biochemical marker in the population of one, two, and three

جمعیت Population	باند Band	تعداد آلل مشاهده شده No. of different alleles	تعداد آلل مؤثر No. of effective alleles	هتروزیگوتی Heterozygosity	شاخص اطلاعات شانون Shannon's information index	درصد چندشکلی Percentage of polymorphic loci
جمعیت یک Population one	میانگین Mean	1.76	1.53	0.29	0.43	76.92
	انحراف معیار SE	0.12	0.11	0.05	0.07	-
جمعیت دو Population two	میانگین Mean	2	1.63	0.38	0.57	100
	انحراف معیار SE	0	0.08	0.03	0.03	-
جمعیت سه Population three	میانگین Mean	1.81	1.6	0.34	0.49	81/82
	انحراف معیار SE	0.12	0.10	0.05	0.07	-
کل Total	میانگین Mean	1.44	1.47	0.26	0.38	66/67
	انحراف معیار SE	0.12	0.06	0.03	0.04	3.85



شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای پراکسیداز شاخه و فلس سه جمعیت ذخیره‌گاه سورکش

Figure 2. Dendrogram of cluster decomposing of branch and leaf's peroxidase in three studied populations in Sorkesh reserved

مقدار فاصله و شباهت ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی

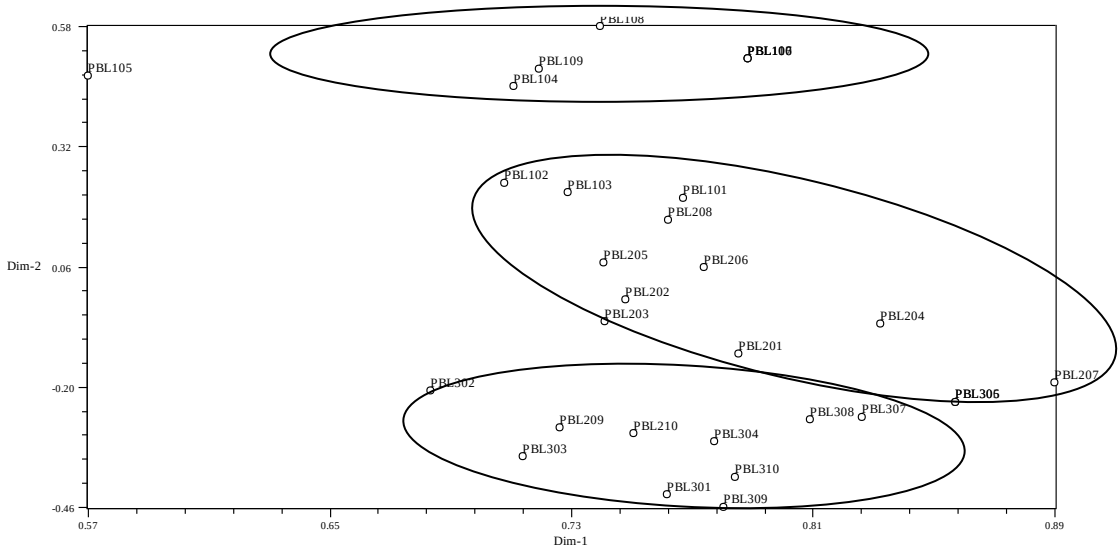
جمعیت دو و جمعیت سه (۰/۸۰۰) دارای بیشترین شباهت ژنتیکی است و بیشترین فاصله ژنتیکی را جمعیت یک و جمعیت سه (۰/۴۰۲) داشته است.

تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) شاخه و فلس سه جمعیت ذخیره‌گاه سورکش

اولین مؤلفه اصلی بیشترین تغییرات داده‌های اولیه (۵۸/۸۶درصد) را در بر دارد و داده‌ها همبستگی بالایی با یکدیگر نشان داده و دومین مؤلفه اصلی بیشترین تغییرات باقی‌مانده (۱۰/۹۸ درصد) را بعد از مؤلفه اصلی اول نشان می‌دهد (شکل ۳). نتایج تجزیه مختصات اصلی به‌کمک دو مؤلفه اول و دوم با واریانس تجمعی (۶۹/۸۴ درصد) نتایج آنالیز خوشه‌ای مربوط به اندام شاخه و فلس سه جمعیت را تأیید می‌کند.

آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)

در بررسی تنوع بین جمعیتی رویشگاه سورکش با استفاده از نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز اندام شاخه و فلس با استفاده از نرم‌افزار AMOVA، نتایج نشان داد که تنوع بین‌جمعیتی در سطح یک درصد معنی‌دار است (φ=۰/۳۹۲) و تنوع درون‌جمعیتی (۶۱ درصد) بیشتر از تنوع بین‌جمعیتی (۳۹ درصد) است (جدول ۴).



شکل ۳- تجزیه به مختصات اصلی پراکسیداز شاخه و فلس سه جمعیت ذخیره‌گاه سورکش

Figure 3. Principal coordinate analysis (PCoA) of branch and leaf's peroxidase of three populations in Sorkesh reserved

جدول ۴- تجزیه واریانس مولکولی برای تفاوت ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی

Table 4. Analysis of molecular variance for genetic variation of studied populations

منبع تغییرات SSE	درجه آزادی Df	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	واریانس تخمینی Est.Var	تنوع ژنتیکی Genetic diversity
بین جمعیت‌ها Among pops	2	33.20	16.60	1.43	39%
درون جمعیت‌ها Within pops	27	60.10	2.22	2.22	61%
کل Total	29	93.30		3.66	100%

بحث

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 (Zulfaqhar, 2009). یکی از آنزیم‌های مهم که در بررسی‌های تنوع ژنتیکی کاربرد وسیعی پیدا کرده است، نشانگر پراکسیداز است (Ali Ahmad Korori, 1993). آنزیم پراکسیداز به‌دلیل تعدد جایگاه‌های ایزوآنزیمی بارها برای بررسی تنوع ژنتیکی درختان استفاده شده است (Ali Ahmad Korori, 2011). مقایسه نشانگر ایزوآنزیمی پراکسیداز اندام شاخه و فلس در ذخیره‌گاه سورکش فاضل‌آباد با توجه به نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار GenAlEx نشان داد که اندام فلس با میانگین تعداد آلل مشاهده شده در هر جایگاه ژنی (۱/۴۸)، میانگین تعداد آلل مؤثر (۱/۴۹)، هتروزیگوتی قابل انتظار (۰/۲۷)، میانگین شاخص اطلاعات شانون (۰/۳۹)، تعداد باند (۹) و درصد چندشکلی (۶۶/۶۷) نسبت به ویژگی‌های آللی اندام شاخه با میانگین تعداد آلل مشاهده شده در هر جایگاه ژنی (۱/۳۹)، میانگین تعداد آلل مؤثر (۱/۴۲)، هتروزیگوتی قابل انتظار (۰/۲۴)، میانگین شاخص اطلاعات شانون (۰/۳۷)، تعداد باند (۶) و درصد چندشکلی (۶۶/۶۷) دارای مقادیر بیشتری نسبت به شاخه است. قسمت‌های مختلف گیاه دارای الگوهای پروتئینی ثابت نیستند، بلکه هر قسمت گیاه دارای الگوهای پروتئینی خاص خود است که این الگو می‌تواند معرف سیستم فیزیولوژیک آن قسمت از گیاه باشد. با توجه به نتایج مقایسه ویژگی‌های آللی اندام فلس و شاخه، اندام فلس دارای فعالیت آنزیمی بیشتری است. به‌نظر می‌رسد علت کمتربودن فعالیت آنزیمی نمونه‌های شاخه نسبت به فلس ناشی از همیشه‌سبز بودن گونه و حساسیت بیشتر اندام فلس برای مقابله با عوامل نامساعد محیطی و شروع سرما است. در این زمان آماده‌سازی متابولیکی گیاهان در برابر سرما شروع شده و معمولاً گیاهان در این شرایط نیازمند به افزایش پروتئین‌های خاصی هستند بنابراین چون اندام فلس بر اساس ساختار درونیش نسبت به شاخه حساس‌تر است دارای فعالیت آنزیمی بیشتری است. پژوهشگران بسیاری در بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های پهن‌برگ و سوزنی‌برگ مورد پژوهش خود از پلی‌مورفیسم ایزوآنزیم پراکسیداز برگ استفاده کرده و نتایج بسیار خوبی را ارائه کردند (Babaei et al., 2010، Calagari et al., 2007; Majourhat et al., 2002; Xuexin, 1991;). همچنین پژوهشی که توسط Jalili et al. (2017) روی تنوع درون و بین جمعیتی گونه ارس بر اساس نشانگرهای ایزوآنزیمی پراکسیداز و استراز اندام‌های شاخه و فلس در رویشگاه چهارباغ انجام شدنشان داد که میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده در هر جایگاه ژنی (۰/۲۰۷)، میانگین تعداد آلل مؤثر (۰/۲۰۵)، هتروزیگوتی قابل انتظار (۰/۰۱۱)، میانگین شاخص اطلاعات شانون (۴۱/۵۷)، تعداد باند (۱۲) و درصد پلی‌مورفیسم پایه‌ها (۹۱/۶۷) برای اندام فلس متنوع‌تر از شاخه بوده و بالاترین مقدار تنوع را نشان داده است که در مقایسه با نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش دارای میانگین شاخص اطلاعات شانون، تعداد باند و درصد پلی‌مورفیسم بیشتر و میانگین تعداد آلل در هر جایگاه ژنی، میانگین تعداد آلل مؤثر، هتروزیگوتی قابل انتظار کمتری است.

در بررسی تنوع ژنوتیپی درون جمعیتی جمعیت‌های مورد بررسی به‌وسیله نشانگر ایزوآنزیمی پراکسیداز اندام فلس با توجه به‌نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار GenAlEx نشان داد جمعیت دو با میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده در هر جایگاه ژنی (۲)، میانگین تعداد آلل مؤثر (۱/۷۷)،

هتروزیگوتی قابل‌انتظار (۰/۴۲)، میانگین شاخص اطلاعات شانون (۰/۶۰) و درصد پلی‌مورفیسم (۱۰۰) نسبت به دو جمعیت دیگر دارای بیشترین شاخص‌های تفکیک آللی است و جمعیت سه و یک بعد از جمعیت دو به‌ترتیب دارای بیشترین شاخص‌های تفکیک آللی هستند که با نتایج ترکیب پراکسیداز اندام شاخه و فلس مشابه است. علت بالاتربودن تنوع درون‌جمعیتی جمعیت دو احتمالاً به‌علت بزرگتربودن این جمعیت نسبت به دیگر جمعیت‌های منطقه است و با توجه به حفاظت بهتر از این منطقه کمترین خسارت انسانی در این جمعیت مشاهده شد. در پژوهشی که توسط Perry et al. (1990) روی تنوع ژنتیکی درون و بین‌جمعیتی شش جمعیت از *Thuja occidentalis* در شمال غربی آنتاریو در کانادا با استفاده از الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد محدوده هتروزیگوتی جمعیت‌ها بین ۰/۰۷۷ تا ۰/۱۰۹ و میانگین ۰/۰۹۴ بود که در مقایسه با نتایج این پژوهش کمتر است. همچنین در تحقیقی که توسط Lamy et al. (2011) روی تنوع ژنتیکی و ساختار ژنتیکی شش جمعیت از *Thuja occidentalis* را در جنوب کبک کانادا با استفاده از الکتروفورز ژل استات سلولز انجام شدنتایج نشان داد میانگین درصد چندشکلی ۵۴/۲ درصد، میانگین آلل مشاهده شده در هر جایگاه ۱/۶، میانگین آلل موثر ۱/۱۵، هتروزیگوتی مشاهده‌شده ۰/۱۱۶ و هتروزیگوتی مورد انتظار ۰/۱۲۹ بود و هیچ تفاوت معنی‌داری بین شش جمعیت برای این پنج شاخص ژنتیکی وجود نداشت که در مقایسه با نتایج تحقیق حاضر مقادیر کمتری دارد. در پژوهش دیگری که توسط Xie et al. (1992) روی تنوع ژنتیکی ۱۴ جمعیت از رویشگاه طبیعی نوش در چین انجام شد، نشان داد به‌طور متوسط تعداد آلل مشاهده‌شده ۱/۸۹، درصد چندشکلی ۵۷/۰۰ و هتروزیگوتی مورد انتظار ۰/۱۴۴ به‌دست آمد که در مقایسه با نتایج حاصل از این پژوهش کمتر است. Seok-Woo et al. (2003) تنوع ژنتیکی نوش را در ۱۲۰ پایه از چهار جمعیت طبیعی در شمال کره بررسی کردند. نتایج نشان داد که مقدار تنوع ژنتیکی پایین است (He=۰/۰۹۵، Ho=۰/۰۸۱) که در مقایسه با نتایج این پژوهش هتروزیگوتی جمعیت‌های سورکش خیلی بالاتر است.

در مقایسه تنوع درون و بین‌جمعیتی جمعیت‌های مختلف رویشگاه سورکش با استفاده از سیستم فلس پراکسیداز با توجه به‌نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، تنوع درون جمعیتی حدوداً ۶۰ و تنوع بین جمعیتی حدوداً ۴۰ به‌دست آمد که با نتایج حاصل از ترکیب نشانگر پراکسیداز اندام فلس و شاخه مشابه است که باید برای افزایش تنوع درون جمعیتی تلاش بیشتری شود. در پژوهشی که توسط Perry et al. (1990) روی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی شش جمعیت از *Thuja occidentalis* در شمال غربی آنتاریو در کانادا انجام شد، نتایج نشان داد که حدود ۱/۶ درصد از کل تنوع ژنتیکی بین جمعیتی و ۹۸/۴ درصد درون جمعیتی بوده که در مقایسه با نتایج حاصل از این تحقیق تنوع درون جمعیتی بیشتر از بین جمعیتی بوده ولی تنوع درون جمعیتی گونه نوش پایین‌تر از هم‌جنس‌های خود در کره، چین و کانادا مشاهده شد. همچنین در پژوهش انجام‌شده توسط Xie et al. (1992) بر روی تنوع ژنتیکی نوش در چین نشان داد که تنوع بین- جمعیتی ۱۴ درصد و تنوع درون جمعیتی ۸۶ درصد به‌دست آمد. در پژوهشی که توسط Seok-Woo et al. (2003) روی تنوع ژنتیکی *Thuja orientalis* در شمال کره انجام شد تنوع درون‌جمعیتی بیشتر از بین جمعیتی به‌دست آمد. در پژوهشی که توسط Rostami et al. (2019) روی تنوع ژنتیکی سیب شرقی (*Malus orientalis*) در جنگل‌های هیرکانی

ایران انجام شد نتایج نشان داد تنوع درون و بین جمعیت‌ها به‌ترتیب ۹۷ و سه درصد از کل تنوع بود که بیانگر تنوع درون جمعیتی قابل ملاحظه در جمعیت‌های این گونه است. با توجه به‌نتایج به‌دست آمده بر اساس سوزنی‌برگان دو پایه دیرزیست، سطوح تنوع ژنتیکی به‌طور نظری بایستی در درون جمعیت‌ها بالاتر از بین جمعیت‌ها باشد (Hawkins and Sweet, 1989).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده مطابق جدول (یک و دو) مشاهده می‌شود که اندام فلس در گونه نوش دارای ویژگی‌های آللی بهتری نسبت به شاخه در پژوهش‌های تنوع ژنتیکی است. همچنین مشاهده می‌شود که تنوع درون‌جمعیتی بیشتر از بین‌جمعیتی است. بنابراین به‌طور کلی مشاهده می‌شود ذخیره‌گاه سورکش فاضل‌آباد یکی از مهم‌ترین ذخایر ژنتیکی گونه‌های چوبی کشور بوده که با توجه به‌مقدار تنوع ژنتیکی به‌نسبت خوب ولی کوچک بودن جمعیت باقی‌مانده باید نسبت به گسترش ذخیره‌گاه در محل ذخیره‌گاه و همچنین مناطق دیگر مستعد رویش این گونه اقدامات لازم به‌کمک زادآوری طبیعی، بذرگیری از پایه‌های شاخص برای جنگل‌کاری انجام شود. همچنین پیشنهاد می‌شود از دو جمعیت دیگر (یک و سه) که دارای تنوع کمتری هستند حفاظت بیشتر به‌عمل آید که این‌کار را می‌توان با محصورکردن رویشگاه و جلوگیری از ورود دام به‌داخل عرصه، تهیه بذر از پایه‌های شاخص این دو جمعیت و در امر زادآوری طبیعی یا تولید نهال برای احیای مصنوعی اهمیت بیشتری به این پایه‌ها داده شود. جمعیت یک به‌علت نزدیکی بیشتر به تأثیرات مخرب انسانی مانند کوبیدگی خاک در اثر رفت آمد و ورود دام از تنوع کمتری برخوردار است. همچنین برای حمایت، حفاظت و حراست فیزیکی به‌تنهایی کافی نیست. به‌احتمال خیلی زیاد در جمعیت ضعیف تعداد آلل‌های مؤثر نیز کاهش یافته است (این موضوع در جدول ۲ که به‌فعالیت آنزیم پروکسیداز فلس مربوط می‌شود کاملا مشهود است). کاهش آلل‌های مؤثر نشان می‌دهد که تعداد پایه‌هایی که نقش مؤثر در گرده افشانی و لقاح دارند کاهش پیدا کرده است. می‌توان پیشنهاد داد که بذر برخی از پایه‌های شاخص از جمعیتی که تنوع بهتری دارند را در جمعیت ضعیف بکارند. حتی می‌توان موضوع تشکیل باغ بذر را برای نوش پیشنهاد داد. یکی از کارکردهای مهم برنامه‌های بین المللی باغ بذر، کارکرد آن برای توسعه نسل‌های مقاوم به تنش‌های ناشی از تغییر اقلیم است.

References

Ali Ahmad Korori, S.; Khoshnevis, M., Matinizadeh, M., Comprehensive studies of *Juniperus spises* in Iran. Introduction 1. Forest, Range and Watershed Management Organization, Tehran. 2011; 549 p.

Ali Ahmad Korori, S.; Salehi Shanjani, P., Matinizadeh, M., Moraghebi, F., Teymouri, M., Maghouli, F., Jabali, M., Study of the relationship between *Juniperus polycarpos* and *J. Excelsa* foundations using an enzymology. *Research and Development Journal* **1993**, (37), 38-41.

Azadfar, D., Ecological study and genetic classification *Cerasus avium* trees of Waz Research Forest, Master's thesis, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modarres University, 1998; 157p (In persian).

Babaei, F.; Jalali, GH., Azafar, D., Study of the genetic diversity of *Zelkova carpinifolia* trees using leaf isoenzyme peroxidase in three plum cultivations in northern Iran. *Journal of Genetic Research and Plant Breeding in Iran* **2010**, *1* (18), 83-92. (In persian)

Calagari, M.; Jafari Mofidabadi, A., Tabari, M., Hoseini, S.M., Genetical variation on natural populations of *Populus euphratica Oliv.* by peroxidase isoenzyme, *Iranian Journal of Forest and Poplar Research* **2007**, *15* (2), 115-122. (In persian)

Fallah, H.; Tabari, M.; Azadfar, D., Determination ecotypes of Populus caspica Bornm. in plain communities of Caspian

forests using morphological markers of leaf and peroxidase isoenzymes. *Taxonomy and Biosystematics* **2011,** *3* (6), 47-58.

Ghahraman, A., Flora of Iran, Publications of the Institute of Forest and Rangeland Research, 2000; 320 p (In persian).

Grambow, H.; Langenbeck-Schwich, B., The relationship between oxidase activity, peroxidase activity, hydrogen peroxide, and phenolic compounds in the degradation of indole-3-acetic acid in vitro. *Planta* **1983,** *157* (2), 132-137.

Hawkins, B.; Sweet, G., Genetic variation in rimu—an investigation using isozyme analysis. *New Zealand journal of botany* **1989,** *27* (1), 83-90.

Höld, K. M.; Sirisoma, N. S.; Ikeda, T.; Narahashi, T.; Casida, J. E., α-Thujone (the active component of absinthe): γ-Aminobutyric acid type... http://ukpmc. ac. uk/articles/PMC18101/reload= 0; jsessionid= F0E1D05. *Proc Natl Acad Sci US A* **2000,** *97* (8), 3826-3831.

Imam, M., In vitro propagation of *Thuja orientalis* L. through its branches. *Genetic Research and Breeding of Rangeland and Forest Plants of Iran* **2003**, *11* (1), 1-15. (In Persian)

Jalili, Y.; Azadfar, D., Saeedi, Z., The Effect of domain on genetic diversity of *Juniperus Polycarpos* C. Koch in Chaharbagh of Golestan Province using biochemical markers. *Journal of Plant Environmental Physiology* **2017**, *12* (470), 66-75. (In Persian)

Karimi, L.; Azadfar, D., Consideration and comparison of genetic diversity of English yew species (Taxus baccata L.) by using branch and leaf peroxidase. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* **2011,** *18* (2).

Korori, S., Dissertationsarbeit Zur Eelangung des Dokorgrades and der Universtat fer Bodenkult in Wien Eingereicht von Frou Dipl. Ing: 1989.

Lamy, S.; Bouchard, A.; Simon, J.-P., Genetic structure, variability, and mating system in eastern white cedar (Thuja occidentalis) populations of recent origin in an agricultural landscape in southern Quebec. *Canadian journal of forest research* **1999,** *29* (9), 1383-1392.

Majourhat, K.; Bendiab, K.; Medraoui, L.; Baaziz, M., Diversity of leaf peroxidases in date palm (Phoenix dactylifera L.) as revealed in an example of marginal (seedling derived) palm groves. *Scientia horticulturae* **2002,** *95* (1-2), 31-38.

Mobin, S., Vegetables of Iran-Flora of vessel. Volume I, Tehran University Press, Second Edition, 1981; 496 p. (In persian).

Mozaffarian, V., Iranian Trees and Shrubs. Contemporary Culture Publishing, 2004; 991p. (In persian)

Perry, D. J.; Knowles, P.; Yeh, F. C., Allozyme variation of Thuja occidentalis L. in northwestern Ontario. *Biochemical systematics and ecology* **1990,** *18* (2-3), 111-115.

Rostami, R.; Seyedi, N.; Yousefzadeh, H., 2019. Genetic diversity of wild apple (Malus orientalis Uglitz.) in hyrcanian Forests of Iran by SSR markers, *Journal of Forest Research and Development*, 5(2): 169-179 (In persian).

Sabetti, H., Forests, shrubs and trees of Iran. Yazd University Press, 2002; 810 p. (In Persian)

Salehi Shanjani, P., Quantitative and qualitative study of *Taxus* peroxidase enzyme activity in Golestan and Arasbaran forests. *Iranian Biology Journal* **2001**, 20 (1-2), 31-39 (In persian).

Salehi shanjani, P.; Sagheb talebi, KH., The survey of qualitative and quantitative morphological characteristics of Iranian *Figus* stands from a gene conservation perspective. *Iranian Forest and Populus Research* **2006**, *12* (2), 147-184 (In persian).

Seok-Woo, L.; Soo Kim, CH., Seong Jang, S., Min Chung, J., Genetic Variation of *Thuja orientalis* in South Korea. **2003**, *5* (2), 203.

Stich, K.; Ebermann, R., Investigation of the substrate specificity of peroxidase isoenzymes occurring in wood of different species. Holzgorschung**1988**, 42(3):221-224.

Sulkowska, M. K., Isoenzyme analyses tools used long time in forest science. *Electrophoresis* **2012**, 157-172.

Wahid, N.; Jouidre, H.; Lamhamedi, M. S.; El-Abidine, A. Z.; Boulli, A., Evaluation of the structure and genetic variability of natural populations of Aleppo pine (Pinus halepensis Mill.) in Morocco using isozyme markers. *Acta Botanica Gallica* **2010,** *157* (3), 419-431.

Xie, C. Y.; Dancik, B. P.; Yeh, F. C., Genetic structure of Thuja orientalis. *Biochemical Systematics and Ecology* **1992,** *20* (5), 433-441.

Xuexin, S., An Approach on Genetics and variation of peroxidase of Natural *populus euphratica* Population. *Journal of Desert Research* **1991**, *11* (1).

Yeh, F. C.; Yang, R.; Boyle, T. B.; Ye, Z.; Mao, J. X., POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular biology and biotechnology centre, University of Alberta, Canada* **1997,** *10*, 295-301.

Zulfaqhar, S.; Danehkar, A., Etemad, V., Monogram of *Tuja orientalis*. *Monthly Journal of Analytical-Research*, Sabineh **2009**, *4* (40), 65.

Zulfaqhar, S.; Danehkar, A., Sharifi, N., Revision of the Conservation Stage of *Tuja orientalis* accordance in with the IUCN Criteria **2010**, *23* (199), 40.

Study of genetic diversity *Thuja orientalis* by Peroxidase marker in reserved forest of Sorkesh

M. Khazaei poul[*1], D. Azadfar[2] and Z. Saeedi[3]

1- M.Sc. Graduate of Silviculture and Forest Ecology, Faculty of Natural Resources, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I. R. Iran. (khazaeimasoomeh65@yahoo.com)
2- Associate Professor, Department of Silviculture and Forest Ecology, Faculty of Natural Resources, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I. R. Iran. (azadfar@gau.ac.ir)
3- Expert of the General Department of Natural Resources and Watershed Management of Golestan Province, Gorgan, I. R. Iran. (Saeedizohre@gmail.com)

Received: 14.02.2020 Accepted: 05.08.2020

Abstract

The aim of this study was to determine and compare the genetic diversity of wild populations of *Thuja orientalis* by biochemical markers polymorphism of leaves and two-year-old branches Peroxidase. The sampling was done in 30 individuals of *Thuja orientalis* in three populations. Samples were taken from medium crown height in the south direction. Data analysis was performed by GenAlEx software on the allele characteristics of the studied markers and comparing the ability of these two organs and grouping of the trees to examine the intra- and inter-population variation by cluster analysis of electrophoretic data (prepared gels) by NTSYS 2.02 software. Qualitative measures were studied by vertical electrophoresis and PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) method and the electrophoretic data were classified using cluster analysis. According to the results, the second population with the average number of alleles observed per gene locus (2), the average effective number of alleles (1.77), the expected heterozygosity (0.42) and the percentage of polymorphism (100) have the most allelic separation indices in comparison to the other two populations. Also, the higher genetic diversity in intra-population (nearly 60) than inter-populations (nearly 40) should be considered in the management of this reserved forest to increase diversity. Also, the scale in *Thuja sp.* with the average number of alleles observed per gene locus (1/48), the average effective number of alleles (1.49), the expected heterozygosity (0.27), mean Shannon's information index (0.39), number of bands (9) and percentage of polymorphism (66/67) has better allelic characteristics than the branch in genetic diversity studies.

Keywords: Biochemical marker, Electrophoresis, Fazel Abad, Intra population diversity.

[*] Corresponding author Tel: +989336250271