

بررسی تغییرات ژنتیکی جوامع پده با استفاده از آنزیم پراکسیداز

محسن کلاگری^۱، علی جعفری مفید آبادی^۱، مسعود طبری^۲ و سید محسن حسینی^۲

۱ - اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، پست الکترونیک: Calagari@rifr-ac.ir

۲ - اعضای هیات علمی گروه جنگلداری دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس.

تاریخ دریافت: ۸۵/۴/۱۳ تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۰/۱۳

چکیده

گونه پده (*Populus euphratica* Oliv.) به طور طبیعی در مناطق گسترده ای از ایران انتشار یافته و بومی مناطق خشک و نیمه خشک است. تنوع جغرافیایی و اقلیمی در گستره انتشار این گونه سبب شده تا تفاوتی از نظر مورفولوژیکی و ژنتیکی میان درختان در رویشگاههای مختلف حاصل گردد. بررسی ایزوآنزیمی با استفاده از آنزیم پراکسیداز برای تعیین تغییرات ژنتیکی جوامع پده درباره ۱۱۰ نمونه از برگ در یازده رویشگاه طبیعی که به لحاظ محیطی، طول، عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا با یکدیگر اختلاف داشتند انجام و فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز به روش ژل پلی اکریل آمید الکتروفورز (PAGE) انجام شد. نتایج حاصل از تغییرات کیفی آنزیم پراکسیداز در ده درخت از هر رویشگاه، ظهور باندها و الگوهای ایزوآنزیمی متفاوتی را نشان داده است. در مجموع نه باند مجزا در سه ناحیه متفاوت بر روی ژل نمایان شد. ناحیه اول حداکثر دارای پنج باند و پلی مورفیسیم بوده، ناحیه دوم دو باند و ناحیه سوم نیز دارای دو باند بوده است. نتایج گروه بندی درختان در رویشگاههای مورد بررسی با استفاده از فراوانی هر یک از باندها از طریق تجزیه خوشه ای سه خوشه اصلی را روی دندروگرام نشان داده است. خوشه اول شامل رویشگاههای سرخس، خجیر و دزفول، خوشه دوم شامل رویشگاههای داشلی برون، ملاوی، حمیدیه، گتوند، منجیل، جلفا و ماه نشان بوده و در خوشه سوم نیز تنها رویشگاه قرخلار قرار داشته که از سایر مناطق متمایز شده است. بیشترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه سرخس در شرقی ترین ناحیه و قرخلار در ناحیه شمالی کشور مشاهده شد.

واژه های کلیدی: پده، پراکسیداز، ایزوآنزیم، تنوع ژنتیکی، تنوع جغرافیایی.

مقدمه

گونه پده (*Populus euphratica* Oliv.) به طور طبیعی در مناطق وسیعی از آسیا، آفریقا و اروپا گسترش دارد (FAO, 1979). این گونه در مناطقی از ایران به طور طبیعی انتشار داشته و بومی مناطق خشک و نیمه خشک کشور است. دامنه پراکنش آن در ایران از مناطق گرم نظیر استانهای خوزستان و سیستان تا مناطق سرد نظیر آذربایجان و زنجان است (ثابتی، ۱۳۵۵). از خصوصیات مهم این گونه بردباری آن به خشکی، شوری خاک و همچنین در مناطق بیابانی مقاوم به فرسایش بادی است (Shiji et al., 1996). درخت پده در مناطق تحت انتشار به لحاظ استفاده از

چوب جهت مصارف روستایی، تامین علوفه دام، حفظ و تثبیت دیواره های کناری رودخانه و نیز زیستگاه حیات وحش اهمیت دارد (کلاگری، ۱۳۷۶). دوپایه بودن این گونه همراه اختلافهای جغرافیایی و اقلیمی سبب بروز تفاوتی به لحاظ مورفولوژیکی و ژنتیکی شده است. بررسی های ایزوآنزیمی بسیاری به منظور بررسی تنوع ژنتیکی جوامع طبیعی و نیز روابط خویشاوندی کلنهای حاصل از تلاقی های بین و درون گونه ای جنس صنوبر گزارش شده است (Rajora, 1989 & 1990).

مطالعه درباره جوامع پده با استفاده از روشهای بیوشیمیایی در کشور چین توسط (Xuexin, 1991) انجام

که از نظر اقتصادی از اهمیت بیشتری برخوردار باشند را فراهم می سازد.

مواد و روشها

رویشگاههای طبیعی درختان پده در ۱۱ منطقه ایران از طول جغرافیایی ۱۰° ۶۱' شرقی در منطقه سرخس تا ۴۵° ۳۵' در منطقه قرحلار و عرض جغرافیایی ۵۰° ۳۸' شمالی در منطقه جلغا تا عرض ۳۰° ۳۱' در منطقه حمیدیه انتخاب شد. از نظر ارتفاع از سطح دریا نیز از ارتفاع ۵۰ متر در منطقه حمیدیه و داشلی برون تا ارتفاع ۱۸۰۰ متر در منطقه ماه نشان و از نظر اقلیمی نیز در اقالیم خشک، نیمه خشک و معتدل قرار دارد (جدول ۱ و شکل ۱).

شده است. او با جمع آوری برگهای ۹۴ درخت پده از جنگلهای جیوکان و با استفاده از تجزیه و تحلیل آنزیم پراکسیداز توانست در میان جوامع مختلف چهار کلن را که از نظر ژنتیکی اختلاف اساسی داشتند نشان دهد. چند سال بعد مطالعه‌ای در مورد ساختمان ژنتیکی هشت جامعه پده در استان خینجیانگ چین با استفاده از چهار سیستم آنزیمی انجام شد و روابط ژنتیکی میان این جوامع تعیین گردید (Yuzhi et al., 1998). شناخت رویشگاههای طبیعی پده با استفاده از تکنیک ایزوآنزیمی پراکسیداز برای مطالعه تنوع ژنتیکی جوامع پده، امکان دستیابی به عملیات اصلاحی و در نهایت تولید پایه هایی



شکل ۱- موقعیت رویشگاههای مورد بررسی بر روی نقشه

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی جوامع پده در مناطق مورد بررسی

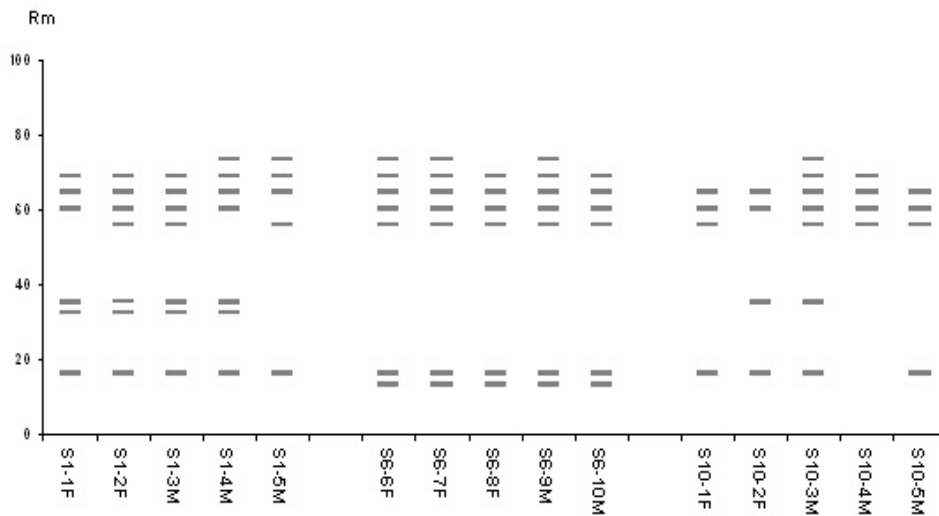
ردیف	استان	رویشگاه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی (شرقی)	عرض جغرافیایی (شمالی)	میانگین دمای سالانه (سانتیگراد)	میانگین بارندگی سالانه (میلیمتر)
۱	خراسان	سرخس	۲۶۰	۱۰° ۶۱'	۱۵° ۳۶'	۱۷/۶	۲۰۳/۳
۲	گلستان	داشلی برون	۵۰	۵۶° ۵۴'	۴۶° ۳۷'	۱۷/۱	۲۰۱/۹
۳	تهران	خجیر	۱۳۲۰	۴۵° ۵۱'	۳۹° ۳۵'	۱۷/۶	۲۳۱/۹
۴	گیلان	منجیل	۳۵۰	۱۲° ۴۹'	۴۸° ۳۶'	۱۷/۳	۱۹۶/۴
۵	زنجان	ماه نشان	۱۸۲۰	۴۳° ۴۷'	۴۶° ۳۶'	۱۴/۶	۲۲۳
۶	آذربایجان شرقی	قرخلار	۱۰۷۰	۳۵° ۴۵'	۲۶° ۳۸'	۱۲	۳۴۲/۲
۷	آذربایجان شرقی	جلغا	۷۱۰	۴۷° ۴۵'	۵۰° ۳۸'	۱۴/۸	۱۷۹/۸
۸	لرستان	ملای	۸۵۰	۵۵° ۴۷'	۱۵° ۳۲'	۱۶/۳	۵۲۳/۱
۹	خوزستان	دزفول	۱۴۰	۲۰° ۴۸'	۱۵° ۳۲'	۲۴	۴۴۴/۳
۱۰	خوزستان	گنوند	۸۰	۵۲° ۴۸'	۰۸° ۳۲'	۲۴/۸	۲۹۵/۹

۰/۹ است، دارای فراوانی یک بوده و درختان همگی دارای این باند بوده اند. چهارمین باند از ناحیه اول که حرکت نسبی آن ۶۰/۲۹ است به جز در منطقه جلغا که فراوانی باندها ۰/۵ است در سایر مناطق این باند دارای فراوانی ۱-۰/۸ بوده است. باند با تحرک ۵۵/۸۸ از نظر فراوانی باندها دارای نوسانهایی در مناطق مختلف بوده است، به طوری که بیشترین مقدار حضور این باند مربوط به مناطق داشلی برون، ماه نشان و قرخلار با فراوانی یک بوده و کمترین فراوانی نیز مربوط به منطقه دزفول با ۰/۳ است. بقیه مناطق نیز از نظر فراوانی دارای دامنه‌ای بین ۰/۶-۰/۸ بوده اند. ناحیه دوم شامل دو باند میان رو یکی در فاصله تحرک ۳۵/۲۹ و دیگری در فاصله ۳۲/۲۵ می‌باشد. مناطق سرخس، خجیر و دزفول دارای هر دو باند با درصد فراوانی متفاوت بوده است، درحالی که رویشگاههای داشلی برون، ماه نشان و قرخلار فاقد این دو باند بوده‌اند. ناحیه سوم شامل دو باند در فاصله تحرک

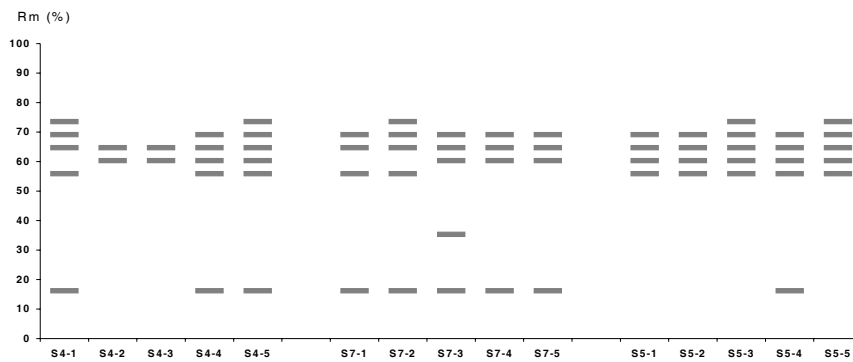
۱۶/۱۸ و ۱۳/۲۳ بوده است. باند با تحرک ۱۶/۱۸ در همه مناطق با نوسانهایی کمتری وجود دارد، به طوری که این باند در مناطق سرخس، داشلی برون، خجیر، ملاوی و حمیدیه در همه درختان این باند وجود داشته و فراوانی آن یک بوده است. این باند به غیر از منطقه ماه نشان که فراوانی آن ۰/۲ است در سایر مناطق دارای فراوانی ۰/۶-۰/۸ است. سنگین ترین باند که در فاصله تحرک ۱۳/۲۳ قرار گرفته است تنها در دو منطقه قرخلار و دزفول به ترتیب با فراوانی ۰/۸ و ۰/۲ حضور دارند. حضور این باند در منطقه قرخلار با فراوانی بالا در تمایز این منطقه با سایر مناطق از نظر این آنزیم نقش مهمی داشته است. همچنین نتایج ایزوآنزیمی پراکسیداز به لحاظ نوع جنسیت اختلافی را بین پایه های نر و ماده نشان نداده است. به عبارتی درختان نر و ماده در هر یک از رویشگاههای مورد نظر از نظر الگوی باندی وضعیت یکسانی داشته‌اند.

جدول ۲- فراوانی باندهای آنزیم پراکسیداز بر اساس حرکت نسبی در رویشگاههای مورد بررسی

شماره باند	حرکت نسبی (Rm)	مناطق مورد بررسی										
		سرخس	داشلی برون	خجیر	منجیل	ماه نشان	قرخلار	جلغا	ملاوی	دزفول	گتوند	حمیدیه
۱	۱۳/۲۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۸	۰	۰	۰/۲	۰	۰
۲	۱۶/۱۸	۱	۱	۱	۰/۷	۰/۲	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۷	۰/۶	۱
۳	۳۲/۳۵	۰/۷	۰	۰/۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۴	۰	۰
۴	۳۵/۲۹	۰/۷	۰	۰/۶	۰/۲	۰	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۸	۰/۴	۰/۲
۵	۵۵/۸۸	۰/۶	۱	۰/۶	۰/۸	۱	۱	۱	۱	۰/۳	۰/۸	۰/۶
۶	۶۰/۲۹	۰/۹	۱	۱	۰/۸	۱	۱	۱	۱	۰/۹	۱	۱
۷	۶۴/۷۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰/۹	۱
۸	۶۹/۱۲	۱	۰	۰/۹	۰/۸	۱	۱	۱	۱	۰/۷	۰/۴	۰/۶
۹	۷۳/۵۳	۰/۵	۰	۰/۵	۰/۵	۰/۴	۰/۴	۰/۵	۰/۴	۰	۰/۲	۰/۲



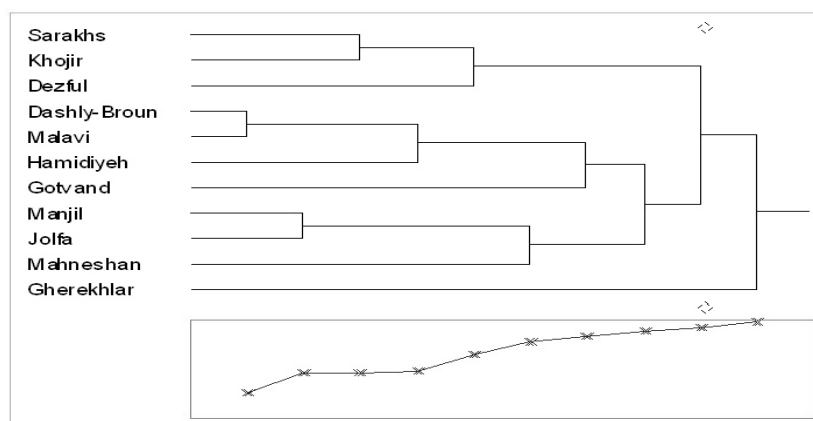
شکل ۲- زیموگرام الگوی الکتروفورزی آنزیم پراکسیداز از برگ درختان نر (F) و ماده (M) پده در مناطق سرخس (S1)، قرخلار (S6)، و گتوند (S10) بر اساس حرکت نسبی (Rm)



شکل ۳- زیموگرام الگوی الکتروفورزی آنزیم پراکسیداز از برگ درختان پده در مناطق منجیل (S4)، جلفا (S7)، و ماه نشان (S5) بر اساس حرکت نسبی (Rm)

پس از تعیین خط پرش و بر اساس شباهتهای ژنتیکی به خوشه ها یا کلاسترهایی تقسیم شدند (شکل ۴).

گروه بندی درختان پده دررویشگاههای مورد بررسی با استفاده از فراوانی هر یک از باندهای آنزیم پراکسیداز به صورت دندروگرام مشخص شد و درختان هررویشگاه



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای درختان رویشگاههای مورد بررسی بر اساس فراوانی باندهای آنزیم پراکسیداز

بحث

استفاده از روشهای ایزوآنزیمی به منظور تعیین تغییرات ژنتیکی جوامع پده در قبل نیز توسط Yuzhi *et al.*, 1998 گزارش شده است. با توجه به اینکه رویشگاههای مورد بررسی از لحاظ شرایط جغرافیایی، آب و هوایی و خاک دارای شیب اکولوژیکی متفاوت هستند، بنابراین از تعداد ۱۱۰ درخت پده از رویشگاههای مورد بررسی تفاوتی در الگوی باندهای درختان در هر یک از رویشگاهها به چشم می خورد. در الگوی باندهای پراکسیداز تعداد نه باند بر روی ژل نمایان شده است که تعدادی از این باندها (شماره ۲، ۵، ۷، ۸ و ۹) با فراوانی متفاوت به طور ثابت برای همه رویشگاهها تکرار شده است، درحالی که باندهای شماره ۱، ۳ و ۴ از جمله باندهایی بودند که در بعضی از رویشگاهها حضور داشته و در تمایز درختان رویشگاهها نقش موثری داشتند. همچنین الگوی باندهای آنزیم پراکسیداز وجود یک باند در فاصله تحرک ۱۳/۲۳ درصد را در رویشگاه قرخلار نشان می دهد که در سایر مناطق دیده نمی شود. با توجه به اینکه قلمه های پده همگی در یک منطقه کشت شده بودند و نمونه های گیاهی نیز از نهالهای یکساله به طور همزمان تهیه شده و تحت تاثیر تغییرات فصلی قرار نگرفته بودند. بنابراین چنین اختلافی می تواند از تفاوت ژنتیکی درختان این رویشگاه با سایر رویشگاهها ناشی شده باشد. رویشگاه دزفول تمامی نه باندها موجود

همانطور که در شکل ۴ دیده می شود خط برش سه خوشه اصلی از جوامع پده را از یکدیگر متمایز می کند. در خوشه اول درختان رویشگاههای سرخس، خجیر و دزفول قرار گرفته است. در خوشه دوم هفت رویشگاه پده شامل داشلی برون، ملاوی، حمیدیه، گتوند، منجیل، جلفا، و ماه نشان قرار می گیرند. خوشه سوم تنها از یک رویشگاه قرخلار تشکیل شده است که از بقیه مناطق متمایز می گردد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین خوشه اول (رویشگاههای سرخس، خجیر و منجیل) و خوشه دوم (رویشگاه قرخلار) وجود داشته است و کمترین فاصله ژنتیکی یا بیشترین قرابت نیز بین خوشه دوم و سوم بوده است. حال اگر خط برش یک رده پایین تر در نظر گرفته شود چهار خوشه متمایز کننده درختان رویشگاههای پده خواهند بود. همانطور که ملاحظه می گردد در این دو نوع خوشه بندی با دو نوع خط برش متفاوت خوشه مربوط به رویشگاههای سرخس، خجیر و دزفول و خوشه مربوط به رویشگاه قرخلار برای هر دو حالت ثابت است. در حالی که برای سایر رویشگاهها اگر خط برش در ناحیه بالا قرار گیرد همگی در یک خوشه قرار می گیرند و اگر هم خط برش یک رده پایین تر قرار گیرد این رویشگاهها در دو خوشه قرار خواهند گرفت (شکل ۴).

منابع مورد استفاده

- ثابتی، ح.، ۱۳۵۵. جنگلها، درختان و درختچه های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، ۸۱۰ صفحه.
- صالحی شانجانی، پ.، ۱۳۷۵. کشت بافت و بررسی عوامل محیطی بر متابولیسم ثانوی و تغییرات کمی و کیفی پروتئینی ایزوآنزیمی پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در ارس (*Juniperus spp.*). پایان نامه کارشناسی ارشد علوم گیاهی دانشگاه تهران، ۳۷۳ صفحه.
- صالحی شانجانی، پ.، ۱۳۸۱. تنوع ژنتیکی راش و ارتباط آن با برخی از ویژگی های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی. رساله دکتری علوم گیاهی دانشگاه تربیت معلم، ۲۲۰ صفحه.
- کلاگری، م.، ۱۳۷۶. بررسی جوامع پده در حاشیه رودخانه کارون. پژوهش و سازندگی، شماره (۳۵): ۲۵-۲۰.
- Dunlap, J.M., Heilman, P.E., and Stettler, R.F., 1995. Genetic variation and productivity of *Populus trichocarpa* and its hybrids. VIII. Leaf and crown morphology of native *P. trichocarpa* clones from four river valleys in Washington. Can. J. For. Res, 25: 1710-1725.
- Ebrahimzadeh, H., 1969. Metabolisme glucidique associe a I organogenese florale *in vitro* chez *Nicotina tabacum* L., des Sciencesde Paris. 143p.
- FAO., 1979. Poplar and willows in wood production and land use. FAO forestry series, 10, 328p.
- Korori, S.A.A., 1989. Gel electrophoretische und spektral photometrische Untersuchungen zum Einfluss der Temperatur auf Struktur und Aktivitat der Amylase und Peroxidase isoenzyme verschiedener baumarten. Ph.D thesis Uni. fuer Bodenkultur Wien, 140p.
- Rajora, O.P., 1989. Genetic structure and identification of *Populus deltoides* clones based on allozymes. Genome, 32: 440-448.
- Rajora, O.P., 1990. Marker allozyme genes and alleles for differentiation of *P. deltoides*, *P. nigra*, *P. maximowiczii* and their interspecific hybrids. Can. J. Bot. 68: 990-998.
- Shiji, W., Binghao, C. and Hugun, L., 1996. Euphrates poplar forest. China Environmental Science Press, 117p.
- Xuexin, S., 1991. An approach on genetics and variation of peroxidase of natural *Populus euphratica* population. Journal of Desert Research, 11 (1).
- Dong, Y., Bai, G., Dong, Y.Z., and Bai, G.B., 1998. Study on the genetic structure of natural population of *Populus euphratica* Oliv. by the isoenzyme technique. Journal of Northest Forestry University, 26: 5 16-20.
- فراوانی های متفاوت را در هر باند داشته است، دلیل آن سطح وسیع جنگلهای پده در حاشیه رودخانه و نیز حفاظت این جنگلها توسط سازمان حفاظت محیط زیست است، درحالی که در رویشگاههای گنوند و حمیدیه در حاشیه رودخانه های کارون و کرخه با وجود شرایط اقلیمی مشابه فاقد دو باند شماره ۱ و ۳ بوده اند. نتایج ایزوآنزیمی درختان در رویشگاههای مختلف بر اساس فراوانی باندها سه خوشه اصلی را نشان داده است (شکل ۴). رویشگاه قرخلار دورترین فاصله ژنتیکی را با رویشگاه سرخس و کمترین فاصله را با رویشگاه ماه نشان داده است. تفاوت آب و هوایی و جغرافیایی نقش مهمی در تغییرات ژنتیکی درختان این رویشگاهها داشته است. چنین مطالعه ای در مورد گونه های دیگر صنوبر نظیر *P. trichocarpa* توسط Dunlap et al., 1995 گزارش شده است. بررسی الگوی باندهای ایزوآنزیمی پراکسیداز از بین پایه های نر و ماده در درون جامعه اختلافی را نشان نداده است و دلیل آن می تواند از عدم وابستگی این صفت به نوع جنسیت ناشی شده باشد و عدم اختلاف حضور باندهای ایزوآنزیمی در پایه های درخت نر و ماده در جنس ارس (*Juniperus sp.*) نیز توسط صالحی شانجانی (۱۳۷۵) گزارش شده است. جوامع پده به رغم تفاوت های ژنتیکی با شرایط محیطی کشور سازگار شده اند و این تنوع منابع ژنتیکی می تواند در راستای عملیات اصلاحی و جنگلکاری به ویژه در مناطق مستعد کشور بسیار قابل اهمیت باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله لازم می دانیم از همکاری و مساعدت همکاران مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور سرکار خانم دکتر صالحی شانجانی، سرکار خانم مهندس شهرزاد و سرکار خانم مهندس جبلی صمیمانه تشکر نماییم.

Genetical variation on natural populations of *Populus euphratica* Oliv. by peroxidase isoenzyme

M. Calagari,¹ A. Jafari Mofidabadi,¹ M. Tabari² and S.M. Hoseini²

1- Member of scientific board, Research Institute of Forests and Rangelands, E-mail: Calagari@rifr-ac.ir

2- Member of scientific board, Tarbiat Modarres University.

Abstract

Populus euphratica Oliv. distributed naturally in vast regions of Iran. Also it is a native species in arid and semi arid of the country. Geographical and climatical differences in *P. euphratica* sites affect on the morphological and genetical differences among the tree populations. Peroxidase isoenzyme analysis from leaf extracts of *P. euphratica* using polyacrylamid gel electrophoresis was conducted to determine genetical characteristics and differentiate individuals in eleven natural populations. Results of peroxidase activity patterns in 110 trees from 11 provenances showed differences among individuals. Peroxidase banding pattern showed three zones of activity. Cluster analysis of data based on bands frequency for 11 provenances showed the existence of three distinct major groups, group 1: Sarakhs, Khojir and Dezful; group 2: Dashly-borun, Malavi, Hamidiyeh, Gotvand, Manjil and Mahneshan; group 3: Gherekhlar. Also there was more genetic distance between Sarkhs and Gherekhlar sites in eastern and northern zones respectively.

Key words: *Populus euphratica*, peroxidase, isoenzyme, genetical variation.