



"مقاله پژوهشی"

تخمین غیرمستقیم ساختار ژنتیکی و جریان ژن در برخی از کلن‌های شالک (*Populus nigra*) با صفات مورفوفیزیولوژیک برگ

شقایق حضرتی^۱، پیام فیاض^۲ و رقیه ذوالفقاری^۳

۱- دانش‌آموخته دانشگاه یاسوج، کارشناسی ارشد، جنگلداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
۲- دانشیار، بیوتکنولوژی جنگل، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، (نویسنده مسوول: pfayyaz@yu.ac.ir)
۳- دانشیار، بیوتکنولوژی جنگل، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
تاریخ دریافت: ۹۹/۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۸/۱۲
صفحه: ۱۱۷ تا ۱۲۶

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: استفاده گسترده از کلن‌های وارداتی صنوبر، می‌تواند موجب تخریب ذخایر ژنتیکی بومی گردد. تعیین فاصله ژنتیکی بین کلن‌ها و تخمین شدت و جهت جریان ژن در بین جمعیت‌های مبدأ، اطلاعات مهمی برای جهت‌دهی به برنامه‌های اصلاحی و حفاظتی در اختیار قرار می‌دهند. در این بین معرفی صفات ریختاری با ثبات و موثر در تمایز کلن‌ها موجب تسریع این فرآیند با صرف هزینه کمتر در مقایسه با نشانگرهای مولکولی می‌گردد.

مواد و روش‌ها: در تحقیق حاضر پنج کلن از گونه شالک (*Populus nigra*) با هدف بررسی امکان تفکیک و برآورد پارامترهای ژنتیکی نظیر فاصله ژنتیکی و جریان ژن، با استفاده از نشانگرهای ریختاری در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در خزانه سلکسیون یاسوج کشت شدند و صفات برگ در نهال‌های یکساله مورد مطالعه قرار گرفت. اندازه‌گیری صفات برگ مرتبط با پهنک، دندان و لوب، رگبرگ، دمبرگ و شکل قاعده و نوک برگ در اواخر فصل رویش انجام شد و امکان تفکیک در سطح کلن با استفاده از تجزیه تابع تشخیص و تجزیه خوشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت با استفاده از یک رویه چندگانه شامل مدل‌های برآورد کننده تابع تشخیص و آنالیز خوشه‌ای روابط فیلوژنتیکی، فاصله ژنتیکی و شدت و جهت جریان ژن بین کلن‌ها مورد بحث و بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج آنالیز تابع تشخیص نشان داد که صفات وزن تر، نسبت ابعاد و نسبت طول به پهنای برگ بیشترین تأثیر را با دقت ۶۵ درصد در تفکیک کلن‌های شالک داشتند. در بین کلن‌های شالک مورد بررسی، کلن بومی ایران با برگ‌های کوچک و باریک از کلن بومی ترکیه متمایز بود و سایر کلن‌ها در حد وسط بودند. این تغییرات با موقعیت جغرافیایی و شرایط اقلیمی این کلن‌ها منطبق بود. کلن‌های بومی و اصلاحی ایران به ترتیب دارای کمترین و بیشترین شکل پذیری بودند. بررسی ساختار ژنتیکی کلن‌ها نشان داد که بین بیشتر کلن‌های مورد بررسی جریان ژن قابل توجهی وجود ندارد، ولی جریان ژن قابل توجهی بین دو کلن ترکی بی‌نام و اصلاحی ایران مشاهده شد، و جهت این جریان بیشتر از سمت کلن ترکی به ایرانی بود.

نتیجه‌گیری: در مجموع نشانه‌های کمی از آمیختگی صنوبر بومی ایرانی با ارقام مورد بررسی مشاهده شد، اما استفاده گسترده از رقم‌های اصلاح شده صنوبر ضرورت توجه به حفاظت از ذخایر ژنتیکی بومی را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آنالیز تابع تشخیص، تمایز کلن‌ها، جریان ژن، ذخایر ژنتیکی، فاصله ژنتیکی، صفات تطبیقی

مقدمه

از میان درختان تند رشد، صنوبرها به دلیل ویژگی‌هایی نظیر سابقه طولانی کاشت در ایران، سازگار بودن با شرایط اقلیمی مختلف، توان استقرار در اراضی کم‌بازده، تولید زیاد چوب در دوره بهره‌برداری کوتاه، سهولت تکثیر رویشی، امکان کشت توأم با محصولات کشاورزی (بیشه زراعی) و کاربرد فراوان و گسترده چوب در صنایع و مصارف روستایی، و قابلیت استفاده برگ در تغذیه دام همواره مورد توجه روستاییان و تولید کنندگان چوب بوده است (۲۴). در میان گونه‌های مختلف جنس صنوبر، گونه شالک (*Populus nigra* L.) به دلیل پراکندگی بسیار گسترده از کشورهای غرب آسیا تا جزایر انگلستان و از سواحل دریای مدیترانه در آفریقا تا شمال اروپا، به عنوان یک گونه مدل درختی در برنامه‌های حفاظت ژنتیک منابع جنگلی در بسیاری از کشورهای اروپایی انتخاب شده است (۲۰). امکان تکثیر غیرجنسی آسان در این گونه موجب انتقال گسترده پایه‌های منتخب و تکثیر غیر جنسی آن در مناطق مختلف غیر از خواستگاه طبیعی آن می‌گردد. هر چند در ابتدای ورود یک کلن، سهم وراثت غیر جنسی در جمعیت حاصل از آن بالاست اما به تدریج سهم وراثت جنسی در آن با آغاز گلدهی و

تشکیل دورگ‌های درون و بین گونه‌ای با جمعیت‌های مجاور مستقر در منطقه افزایش می‌یابد (۵). دورگه‌های طبیعی نقش مهمی در تکامل و اجتناب از رانش ژنتیکی در جمعیت‌ها ایفا می‌کنند، اما دخالت‌های انسانی در این امر خطر انقراض جمعیت‌های بومی را چه از طریق جایگزینی و چه از طریق اختلاط ژنی افزایش می‌دهد (۵).

ورود ارقام خارجی صنوبر به ایران به اوایل عضویت ایران در کمیسیون جهانی صنوبر بر می‌گردد. چندی پس از عضویت ایران در کمیسیون جهانی صنوبر در سال ۱۹۵۵ میلادی (۱۳۳۴ شمسی)، در جریان دوازدهمین نشست این کمیسیون که در سال ۱۹۶۵ میلادی (۱۳۴۴ شمسی) در ایران برگزار شد، ارقامی از صنوبر از ایتالیا، آلمان، ترکیه و هلند به ایران وارد و در سه منطقه نوشهر، کرج و صفرابسته کشت شد (۳۴). اما بر خلاف تحقیقات و فعالیت‌های گسترده صورت گرفته در ایران، مشکلاتی در ثبت و گزارش این دستاوردها مشاهده می‌شود. بطوریکه تاکنون هیچ گزارش رسمی در خصوص مشخصات ارقام صنوبر وارداتی شامل مبدأ جغرافیایی (کشور، طول و عرض جغرافیایی)، جنسیت، سال ورود و محل کشت و تکثیر اولیه در ایران منتشر نشده است و تحقیقات علمی منتشر شده نیز دارای تناقضات بسیار زیادی هستند. برای نمونه قاسمی و مدیر رحمتی (۱۱) مبدأ شالک

اساس میزان سنگلاخی بودن خاک، تقسیم‌بندی گردید. به طوری که خاک بلوک سوم دارای سنگریزه‌های بیشتری نسبت به بلوک اول بود. بافت خاک رسی تا شنی-رسی-لومی و قلیایی بود (اسیدیته ۷/۵، کربن آلی ۱/۸ درصد، نترژن کل ۰/۳ درصد). هر بلوک به ۵ کرت $۲۴ \times ۱/۵$ متری با ایجاد شیارهایی به عمق ۳۰ سانتی‌متر تقسیم‌بندی شد. در هر کرت ۱۵ گودال در مجاورت شیار به فاصله‌ی ۱/۵ متر از یکدیگر به عمق حدود ۳۰ سانتی‌متر به منظور کاشت قلمه‌ها ایجاد گردید. محل هر گودال توسط سیستم آبرسانی قطره‌ای آبرسانی گردید.

تهیه و کاشت کلن‌های صنوبر

در این مطالعه، شاخه‌هایی از پنج کلن شالک مختلف به طول تقریبی دو متر از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور (ایستگاه البرز کرج) تهیه و با حفظ رطوبت (با پیچیدن در داخل پارچه‌ی مرطوب) به یاسوج منتقل و تا زمان کاشت در زیر خاک نگهداری گردید. این پنج کلن شالک شامل دو کلن بومی ایرانی با مبداء کرج (رقم ۴۲/۵۱ و بی‌نام؛ میانگین بارندگی سالانه ایران ۲۵۰ میلی‌متر) و دو کلن وارد شده از ترکیه (رقم ۵۶/۷۲ و بی‌نام؛ میانگین بارندگی سالانه ترکیه ۵۸۰ میلی‌متر) و یک کلن از واریته بتولیوفلیا^۱ (به اختصار بتولی) با مبداء ایتالیا (متوسط بارندگی سالانه ایتالیا ۹۳۲ میلی‌متر) بودند. در اواخر اسفند ماه قلمه‌هایی به طول ۲۰-۳۰ سانتی‌متر و قطر یک تا سه سانتی‌متری و با متوسط سه تا چهار جوانه تهیه و در زمین به عمق ۱۰ تا ۲۰ سانتی‌متر کشت شد. آبیاری به صورت سه تا چهار روز یکبار به میزان نیاز، و عملیات وجین یکبار در اواسط بهار انجام شد.

صفات ریختاری برگ

به‌منظور اندازه‌گیری صفات ریختاری برگ، در اواخر خرداد ماه سال اول رشد در مجموع ۲۷ برگ از هر کلن به طور تصادفی جمع‌آوری شد. به گونه‌ای که در هر بلوک نه برگ از هر کلن (سه نهال از هر کرت و سه برگ از هر نهال) به طور تصادفی جمع‌آوری گردید. صفات ریخت‌شناسی برگ شامل وزن تر، وزن خشک، وزن اشباع، رطوبت نسبی (۲۱)، مساحت برگ^۲، محیط برگ^۳، طول برگ^۴، نسبت طول به پهنای برگ^۵، نسبت ابعاد^۶، ضریب مدوری^۷، ضریب گردی^۸، قطر کالیبری بیشینه^۹، قطر کالیبری کمینه^{۱۰}، طول رگبرگ اصلی از نوک تا محل رگبرگ فرعی اول تا چهارم (L_۱-L_۴)، طول رگبرگ فرعی اول تا چهارم (P_۱-P_۴)، زاویه نوک^{۱۱} و بن^{۱۲}، پهنای میانه برگ^{۱۳}، زاویه رگبرگ^{۱۴}، طول دم‌برگ^{۱۵}، با استفاده از نرم‌افزار Image J 1.43 اندازه‌گیری شدند. سپس بر اساس داده‌های موجود نسبت طول دم‌برگ به طول برگ^{۱۶}، نسبت طول برگ به عرض در ۵۰ درصد طول برگ، مساحت مخصوص برگ^{۱۷}، و وزن مخصوص برگ^{۱۸} محاسبه گردید.

شاخص شکل‌پذیری

میزان شاخص شکل‌پذیری^{۱۹} (PI) در دو سطح جامعه، و کلن با استفاده از کمترین و بیشترین مقدار اندازه‌گیری شده برای هر صفت با استفاده از رابطه $PI = 1 - (x/X)$ محاسبه گردید، بنحویکه x کمترین مقدار صفت و X بیشترین مقدار

کلن ۵۱-۴۲ را ایران، و رستمی کیا و همکاران (۳۱) مبداء آن را ترکیه گزارش نموده‌اند. در مورد دیگر غلامی و همکاران (۱۳) مبداء شالک کلن ۷۲-۵۶ را ترکیه، و تاراسی و همکاران (۳۰) مبداء آن را ایتالیا گزارش نموده‌اند. همچنین نوری و همکاران (۲۷) مبداء شالک بتولی را ترکیه و همتی و مدیررحمتی (۱۵) مبداء آن را ایتالیا گزارش نموده‌اند. وجود چنین عدم اطمینانی در دستاوردهای مراکز اصلاحی، موجب بازماندن سیستم از استفاده کامل از ظرفیت‌های موجود گشته و مشکلات زیادی را در مطالعات ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها و انطباق جغرافیایی آن‌ها به وجود می‌آورد. با وجود مشکلات فوق، در این بررسی تلاش شد با بهره‌گیری از یک راهکار چند سویه شامل پرسش از کارشناسان مراکز تحقیقات، و بررسی مستندات علمی در دسترس، مشخصات مبداء کلن‌ها با اطمینان به نسبت بیشتری گزارش شود.

پایش جریان ژن و نرخ تولید دورگه‌های درون گونه‌ای، هم به صورت مستقیم با استفاده از نشانگرهای مولکولی و هم به صورت غیر مستقیم با استفاده از نشانگرهای ریختاری امکان پذیر است. انجام آنالیز تابع تشخیص به کمک صفات ریختاری یکی از روش‌های کلاسیک در تمایز ژنوتیپ‌ها و نیز تعیین میزان ازدحام دورگه‌ها در یک جمعیت می‌باشد (۱۶،۲۲)، اما در بیشتر پژوهش‌ها، ارزیابی عملکرد محصول مورد توجه قرار گرفته است (۱،۳). هر چند تغییر در عوامل محیطی و سن امکان تفکیک ژنوتیپ‌های مختلف را با مشکل مواجه می‌کند، اما برخی از ویژگی‌های ریختاری برگ شالک دارای تنوع ژنتیکی بالا و شکل‌پذیری پایینی بوده و از این جهت شاخص مناسبی برای مطالعات ژنتیک محسوب می‌شوند (۳۳). بطوریکه تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که امکان تفکیک کلن‌ها و هیبریدهای مختلف شالک با استفاده از صفات ریختاری برگ وجود دارد (۲۶،۱۹). اما با وجود این مطالعات متعدد، اطلاعات بسیار اندکی در مورد روابط تکاملی و اختلاط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف بومی و غیربومی صنوبر در ایران وجود دارد. آنالیزهای اختلاط ژنتیکی به کمک ویژگی‌های ریختارسنجی یکی از روش‌های سریع و کم هزینه در تمایز ژنوتیپ‌ها است که با بهره‌گیری از آنالیزهای چند متغیره نظیر آنالیز تابع تشخیص کانونی برآورد حداکثری از فاصله ژنتیکی و جهت و بزرگی جریان ژن فراهم می‌گردد (۴،۱۴،۲۸). در این مطالعه ضمن بررسی امکان تفکیک کلن‌های مختلف شالک با استفاده از ویژگی‌های ریختاری برگ، فاصله ژنتیکی و شدت و جهت جریان ژن در بین دورگ‌های منتخب بومی و خارجی متداول در ایران مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی بستر کشت

این آزمایش در قطعه زمینی به مساحت ۰/۲ هکتار واقع در مزرعه دانشگاه یاسوج در $30^{\circ}40'06''$ شمالی و $51^{\circ}53'17''$ شرقی (ارتفاع ۱۸۷۰ متر از سطح دریا) انجام شد. به منظور کشت قلمه‌ها، زمین به عمق حدود ۳۰ سانتی‌متر شخم زده شد و به سه بلوک 24×24 متر در جهت شمالی جنوبی، بر

1- Betulifolia	2- Area	3- Perimeter	4- Midrib Length	5- ML: min F
6- Aspect Ratio: نسبت وتر اصلی به وتر فرعی بیضی محاطی	7- Circularity: نسبت مساحت واقعی به مساحت دایره هم محیط	8- Roundness: نسبت مساحت واقعی به مساحت دایره محاطی	9- Feret	10- min Feret
11- Tip angle (TA)	12- Base angle (BA)	13- W50L: عرض در ۵۰ درصد طول برگ	15- Petiol Length	16- PL: ML
14- Vein Angle: زاویه رگبرگ پایینی با آخرین رگبرگ	17- Specific leaf area (SLA)	18- Sprcific leaf mass (SLM)	19- Plasticity index	

همچنین طبق رابطه ۳ از میانگین وزنی Q_{st} های جفتی بین کلن‌ها (مرتبط با سه تابع تشخیص) برای محاسبه شاخص تمایز ژنتیکی نسبی (G_{st}) بین کلن‌ها استفاده گردید. رابطه ۳- شاخص تمایز ژنتیکی نسبی کل (G_{st}) بین کلن‌ها

$$G_{st(a,b)} = \frac{\sum_i Q_{st_i}}{n \sum_i \left[\left(\frac{|\Delta F_{i(a,b)}|}{\Delta F_{i(max)}} \right) \times \left(1 - \frac{|\Delta F_{i(a,b)}|}{\Delta F_{i(max)}} \right) \right]}$$

که در آن $G_{st(a,b)}$ شاخص تمایز ژنتیکی نسبی (استاندارد) کل بین کلن‌های a و b ; $\Delta F_{i(a,b)}$ اختلاف ارزش توابع تشخیص کانونی λ م بین کلن‌های a و b و $\Delta F_{i(max)}$ حداکثر اختلاف ارزش توابع تشخیص کانونی λ م بین تمام کلن‌های مورد مطالعه می‌باشد.

نرخ جریان ژن بین کلن‌های مختلف (N_m)، با استفاده از شاخص تمایز ژنتیکی استاندارد و بر اساس مدل ارایه شده توسط مک درموت و مک دونالد (۲۳) برآورد گردید (رابطه ۴). رابطه ۴- برآورد نرخ جریان ژن بین کلن‌ها

$$\hat{N}_m = c(1 - G_{st}) / G_{st}$$

که در آن c برابر با ۰/۵ در نظر گرفته شد (برای مواردی که عوامل موثر در برآورد شاخص G_{st} به صورت نشانگرهای بارز و مستقل از یکدیگر مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد) (۲۹). مقادیر N_m کمتر از یک نشان دهنده عدم وجود جریان ژن بین دو جمعیت و مقادیر بزرگتر از یک نشان دهنده وجود جریان ژن در جایگاه‌های (توابع) مورد مطالعه می‌باشد. همچنین توازن جریان ژن بین کلن‌ها در جهات مختلف با استفاده از درصد افراد نادرست طبقه‌بندی شده^۲ بر اساس توابع تشخیص کانونی در هر جهت برآورد گردید (۱۰).

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار آماری SPSS 20 استفاده شد. در ابتدا داده‌های پرت بالقوه با استفاده از رسم نمودار باکس پلات مورد پایش و در صورت لزوم مورد بازبینی و اصلاح قرار گرفت. سپس توزیع نرمال داده‌ها به وسیله آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی گردید و پس از نرمال بودن داده‌ها، آنالیز تجزیه واریانس ANOVA در قالب طرح کاملاً تصادفی چند مشاهده‌ای انجام شد (بلوک بر صفات مورد مطالعه اثر معنی‌داری نداشت و در آنالیز واریانس با توجه به عدم سودمندی نسبی حذف شد). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس

در تحقیق حاضر ۳۵ صفت مورفوفیزیولوژیکی برگ در پنج کلن مختلف شالک با سه منشأ ایران، ترکیه و ایتالیا به منظور بررسی امکان تمایز کلن‌ها از یکدیگر و بررسی شدت و جهت جریان ژن در آن‌ها اندازه‌گیری شد (جدول ۱). به‌طور

صفت مورد اندازه‌گیری بود. از داده‌ها ۱۲ مرتبه نمونه‌گیری مجدد با استفاده از رویه نمونه‌گیری تصادفی برنولی ($P=0.5$) برای آزمون الگوی تغییرات پتانسیل شکل‌پذیری صفات در جامعه و کلن صورت گرفت. ارزش‌های کمتر از ۰/۳۵/۵۰/۵۰ معادل شکل‌پذیری کم، ارزش‌های بین ۰/۳۵ تا ۰/۵۰ معادل شکل‌پذیری متوسط، ارزش‌های بین ۰/۵۰ تا ۰/۷۰ معادل شکل‌پذیری زیاد، ارزش‌های بین ۰/۷۰ تا ۰/۹۰ معادل شکل‌پذیری بسیار زیاد، و ارزش‌های بیشتر از ۰/۹۰ معادل شکل‌پذیری به شدت زیاد در نظر گرفته شدند (۳۷).

آنالیز تابع تشخیص و خوشه بندی سلسله مراتبی

جهت مشخص نمودن مهمترین صفات موثر در تفکیک کلن‌ها از آنالیز توابع تشخیص^۱ بر پایه‌ی روش رگرسیونی گام به گام ویلکس لاند (ارزش F برای ورود متغیر ۳/۸۴ و برای خروج ۲/۷۱) استفاده گردید. روابط فیلوژنتیک بین کلن‌های مختلف با استفاده تحلیل خوشه‌ای کلن‌ها بر اساس صفات متمایز کننده حاصل از آنالیز تابع تشخیص با استفاده از خوشه بندی سلسله مراتبی مورد بررسی قرار گرفت.

ساختار ژنتیکی و تمایز کلن‌ها

میزان فاصله اقلیدوسی (به عنوان فاصله فنوتیپی) و فاصله ژنتیکی استاندارد (D_{st}) بین کلن‌ها بر اساس متوسط ارزش توابع تشخیص در مرکز هر گروه، به ترتیب با توجه به رابطه ۱ و ۲ محاسبه گردید (۲۵، ۲۶). با این توضیح که از متوسط ارزش توابع تشخیص در مرکز هر گروه به جای میانگین فراوانی نسبی آلل بین کلن‌ها (۲۲) و از شاخص تمایز کمی استاندارد (Q_{st}) به جای واریانس فراوانی نسبی آلل بین کلن‌ها در محاسبه فواصل فنوتیپی و ژنتیکی استفاده گردید. در واقع هر تابع تشخیص همانند یک آلل در ژنتیک کمی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (سه تابع تشخیص معادل سه آلل در نظر گرفته شد).

رابطه ۱- فاصله اقلیدوسی (d_{st})

$$d_{st(a,b)} = \sqrt{\sum_i (F_{ia} - F_{ib})^2}$$

که در آن $d_{st(a,b)}$ فاصله اقلیدوسی استاندارد بین دو کلن a و b ; و F_{ia} و F_{ib} به ترتیب ارزش تابع تشخیص کانونی λ م برای کلن‌های a و b می‌باشد.

رابطه ۲- فاصله ژنتیکی استاندارد (D_{st})

$$D_{st} = 2\overline{\sigma_x^2} = 2 \frac{\sum_i Q_{st_i}}{n} = 2 \left[\frac{1}{n} \sum_i \frac{\sigma_{ci}^2}{2(\sigma_{ei}^2 + \sigma_{ai}^2) + \sigma_{ci}^2} \right]$$

که در آن D_{st} فاصله ژنتیکی استاندارد؛ و σ_{ei}^2 و σ_{ai}^2 به ترتیب اجزاء واریانس بین کلن‌ها، بین پایه‌ها در کلن (خطای آزمایشی) و بین نمونه‌ها در فرد (خطای نمونه برداری) برای تابع تشخیص کانونی λ م می‌باشند، و برای محاسبه Q_{st} (واریانس ژنتیکی کمی استاندارد) که جایگزین σ_x^2 (واریانس فراوانی نسبی آلل x بین زیر جمعیت‌ها) در نظر گرفته شده است، استفاده گردیدند.

منطبق با عرض‌های جغرافیایی میانی (مانند ترکیه) است و برگ کلن ترکی ۷۲-۵۶ نیز بیشترین ابعاد و کمترین کشیدگی را در مقایسه با سایر کلن‌ها نشان داد که بیشتر منطبق با خصوصیات درختان صنوبر عرض‌های جغرافیایی بالا (مانند ایتالیا) است. ویگر و همکاران (۳۵) نیز تفاوت‌های قابل توجهی را بین جمعیت‌های شالک مستقر در اقلیم‌های متمایز در سرتاسر اروپا گزارش نمودند. به نحویکه صنوبرهای جنوبی (اسپانیا) نسبت به جمعیت‌های شمالی (ایتالیا) ابعاد برگ کوچکتر و مقاومت به خشک بیشتری داشتند.

کلی برگ شالک ایرانی بی‌نام نسبت به سایر کلن‌ها، کوچکتر، کشیده تر و باریکتر بود.

یافته‌های کالوتوتا و همکاران (۱۶) و وی و همکاران (۳۶) نیز نشان داد که جمعیت‌های صنوبر عرض‌های جغرافیایی پایین تر دارای برگ‌های با ابعاد کوچکتر و باریکتری هستند. اما این روند در خصوص کلن‌های ثبت شده (ایرانی ۵۱-۴۲، ایتالیایی بتولی و ترکی ۷۲-۵۶) مشاهده نشد. مقایسه ویژگی‌های ظاهری برگ سایر کلن‌ها نشان داد که برگ کلن‌ها شالک ایرانی ۵۱، ترک ۴۲، نام و ایتالیایی بتولی از نظر ابعاد و کشیدگی در حد متوسط بوده و عمدتاً

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ($\pm$ اشتباه معیار) صفات مختلف مورفولوژیک در پنج کلن شالک مورد مطالعه
Table 1. The results of analysis of variance and mean comparison between different morphologic traits in 5 clones

شکل‌پذیری	F	ترکی ۵۶-۷۲	ترکی بی‌نام	ایتالیایی بتولی	ایرانی ۴۲-۵۱	ایرانی بی‌نام	صفت برگ
۰/۷۵	۴۴/۳۳	***	۲/۳۸±۰/۱۴ ^a	۱/۳۷±۰/۰۸ ^b	۱/۱۳±۰/۰۸ ^b	۰/۷۴±۰/۰۵ ^c	وزن تر
۰/۷۶	۴۲/۸۴	***	۲/۵۸±۰/۱۵ ^a	۱/۴۸±۰/۰۹ ^b	۱/۱۹±۰/۰۸ ^b	۰/۸۲±۰/۰۶ ^c	وزن تورژانس
۰/۵۲	۴۰/۲۸	***	۹۷/۹۳±۵ ^a	۷۳/۶±۲/۵ ^b	۶۴/۸±۲/۳ ^c	۵۳/۶±۱/۸ ^d	قطر کالیپری کمینه
۰/۷۵	۳۹/۷۹	***	۷۵۲±۴۸ ^a	۴۳۷±۲۷ ^b	۳۴۱۹±۲۲ ^c	۳۴۱۶±۲۷ ^b	مساحت
۰/۵۵	۳۸/۳	***	۳/۵۴±۰/۱۳ ^a	۲/۶۸±۰/۰۹ ^b	۲/۴±۰/۰۸ ^b	۲/۴۶±۰/۰۹ ^b	قطر عمودی دمبرگ
۰/۷۵	۳۷/۲۱	***	۰/۷۱±۰/۰۴ ^a	۰/۳۷±۰/۰۲ ^b	۰/۳۸±۰/۰۳ ^b	۰/۳۴±۰/۰۲ ^b	وزن خشک
۰/۵۱	۳۶/۳۷	***	۱۰۳±۴/۰ ^a	۸۳/۲±۳/۰ ^b	۶۶±۲/۳ ^c	۸۳±۲/۶ ^b	قطر کالیپری بیشینه
۵۳	۳۶/۰۵	***	۸۴/۸±۲/۸ ^a	۶۳/۵±۲/۱ ^b	۶۲/۲۴±۲/۵ ^b	۶۳/۱۷±۲/۲ ^b	پهنای میانه
۰/۵۶	۳۳/۲۵	***	۴۱۷±۱۸ ^a	۳۱۲±۱۲ ^b	۲۶۶±۱۸ ^c	۳۰۴±۱۱ ^b	محیط
۰/۵۲	۳۲/۷۲	***	۵۳/۴±۱/۶ ^a	۳۹±۱/۴ ^b	۳۶/۶±۱/۴ ^c	۴۲/۲±۱/۷ ^b	طول دمبرگ
۰/۲۲	۱۹/۱۶	***	۱/۱۱±۰/۰۱ ^c	۱/۰۱±۰/۰۱ ^c	۱/۲۳±۰/۰۲ ^a	۱/۱±۰/۰۲ ^c	نسبت ابعاد
۰/۲۲	۱۸/۴	***	۰/۹±۰/۰۱ ^b	۰/۹۳±۰/۰۱ ^a	۰/۸۱±۰/۰۱ ^d	۰/۹±۰/۰۱ ^{ab}	ضریب گردی
۰/۲۷	۱۷/۵۹	***	۱/۰۶±۰/۰۳ ^c	۱/۱۳±۰/۰۱ ^b	۱/۰۳±۰/۰۲ ^c	۱/۱۵±۰/۰۲ ^b	طول به پهنای برگ
۰/۵۰	۱۷/۶	***	۱/۴۶±۰/۰۵ ^a	۱/۲۱±۰/۰۴ ^b	۱/۱۶±۰/۰۴ ^b	۱±۰/۰۳ ^c	قطر افقی دمبرگ
۰/۳۷	۱۴/۵۹	***	۳۵/۷±۱/۰۸ ^a	۳۰/۱۸±۰/۶ ^b	۳۰/۲۵±۰/۵ ^b	۳۰/۳۳±۰/۷ ^b	تعداد دندان
۰/۵۲	۹/۹۵	***	۶۸±۲/۸ ^a	۶۴/۲۸±۲/۵ ^a	۶۴/۸۸±۲/۵ ^a	۵۶/۹±۲/۴ ^b	زاویه رگبرگ
۰/۴۷	۵/۸۹	***	۶/۶۵±۰/۲۰ ^a	۵/۵۵±۰/۱۸ ^b	۵/۴±۰/۲۰ ^b	۵/۸۵±۰/۲۰ ^b	تعداد رگبرگ
۰/۷۲	۵/۱۳	**	۳۵/۳۶±۲/۲ ^a	۳۴/۲±۱/۸ ^a	۳۱±۱/۷ ^a	۳۲±۱/۵ ^a	طول رگبرگ فرعی چهارم
۰/۴۵	۴/۷۷	**	۰/۵۲±۰/۰۱ ^a	۰/۴۶±۰/۰۱ ^b	۰/۵۵±۰/۰۲ ^a	۰/۵۳±۰/۰۳ ^a	طول دمبرگ به پهنک
۰/۶۴	۴/۳۹	*	۵۶/۸±۳/۰ ^a	۵۶/۲±۲/۷ ^a	۳۹/۵±۲/۴ ^b	۵۲/۳±۲/۵ ^{ab}	طول رگبرگ اصلی از نوک تا فرعی چهارم

معنی‌داری آماره F در سطح ۹۹/۹۵ و ۹۹ درصد به ترتیب با یک، دو و سه ستاره نشان داده شده است. صفاتی که معنی دار نبودند برای اختصار نشان داده نشده اند. آنالیز تعقیبی دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شده است.

ایرانی بی‌نام کمتر تحت تأثیر تغییرات محیطی قرار گرفته و در طولانی مدت از توان تولید با ثبات تری برخوردار است. همچنین در برخی صفات محدود، کلن ایرانی بی‌نام دارای شکل‌پذیری بیشتری بود. در بین انواع شکل‌پذیری، شکل‌پذیری فیزیولوژیکی کمترین هزینه را برای گیاه دارد و بر خلاف شکل‌پذیری ریختاری که به فعالیت مریستمی وابسته بوده و پس از تشکیل برگشت‌پذیر نیست، با سرعت بیشتر و صرف انرژی کمتری متناسب با شرایط محیطی تغییر می‌کند (۱۲). در کلن ایرانی بی‌نام، شکل‌پذیری محتوای نسبی آب به میزان قابل توجهی (بیش از ۰/۲) نسبت به کلن‌های ترکی بیشتر بود. این امر می‌تواند موجب تنظیم بهتر روابط آبی گیاه در شرایط محیطی مختلف شود. به طور کلی، شکل‌پذیری رابطه مستقیمی با جریان ژن در جمعیت‌های مختلف دارد، به طوریکه افزایش جریان ژن به درون یک جمعیت می‌تواند شکل‌پذیری آن جمعیت را افزایش دهد و

با توجه به تفاوت عرض جغرافیایی و متوسط بارندگی سالانه کشورهای مبدأ (ایران ۲۵۰، ترکیه ۵۸۰ و ایتالیا ۹۳۲ میلی متر)، تغییرات مشاهده شده در ابعاد برگ کلن‌های ایرانی و ترکی بی‌نام با موقعیت جغرافیایی و شرایط اقلیمی مبدأ آنها همراستا است. در میان کلن‌های مورد بررسی مشابه ترین کلن به کلن ایرانی بی‌نام، شالک رقم بتولی بود.

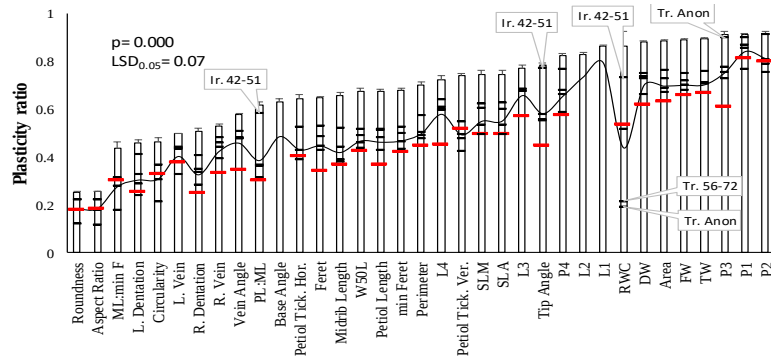
مقایسه شکل‌پذیری کلن‌های مختلف نشان داد که شالک ایرانی بی‌نام کمترین و شالک ایرانی ۴۲-۵۱ بیشترین شکل‌پذیری را از نظر اکثر صفات مورد بررسی دارا بود (شکل ۱). افزایش شکل‌پذیری در یک جمعیت موجب گسترده تر شدن آشیان اکولوژیک آن جمعیت، و در نتیجه افزایش توان استفاده از منابع در رقابت با جمعیت‌های با شکل‌پذیری کمتر می‌شود (۱۲). این موضوع می‌تواند به بهره‌مندی بیشتر شالک ایرانی ۴۲-۵۱ از محیط در شرایط بهینه و در نتیجه عملکرد بیشتر منجر شود، و از سویی دیگر عملکرد شالک

مختلف با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی صورت گرفت نیز صفات مرتبط با ابعاد پهنک (مطلق و نسبی)، با توجه به ضریب بالایی که در اولین مولفه اصلی تابع تشخیص داشتند، از اهمیت بیشتری نسبت به سایر صفات برگ در تمایز کلن‌ها برخوردار بودند. همچنین نتایج مشابهی در امیری و آزادفر (۶)، علی محمدی و همکاران (۲)، و ون دم (۳۳) گزارش گردید. در تحقیقات مختلفی که به‌منظور بررسی امکان تفکیک کلن‌ها صورت می‌گیرد، استفاده از صفاتی مانند وزن تر برگ، به دلیل شکل‌پذیری درون گروهی بالا چندان رایج نیست، اما در این تحقیق با هدف بررسی امکان برآورد شاخص‌های جریان ژن مورد استفاده قرار گرفت. وزن تر همبستگی بالایی با ابعاد و مساحت برگ دارد که ورود آن به تابع تشخیص در این بررسی، مؤثرتر از سایر صفات همبسته بوده اما ضریب بالای شکل‌پذیری از کارآمدی این صفت در تفکیک کلن‌های شالک در محیط‌های مختلف می‌کاهد.

برعکس (۹). کم بودن شدت جریان ژن برآورد شده در جمعیت کلن ایرانی بی‌نام (حداکثر ۰/۰۵) و زیاد بودن آن در کلن ایرانی ۴۲-۵۱ (حداکثر ۰/۴۴)، صحت این نظریه را مورد تأیید قرار می‌دهد. این نتایج همچنین با نتایج اسدی و همکاران (۷) که هتروزیگوتی کمی در شالک ایرانی نسبت به اروپایی مشاهده کردند مطابقت دارد.

از بین صفات اندازه‌گیری شده، سه صفت وزن تر، نسبت ابعاد و نسبت طول برگ به پهنای برگ به‌طور معنی‌داری با استفاده از روش گام به گام وارد توابع تشخیص شدند (جدول ۲ و ۳ و شکل ۲).

با استفاده از این سه صفت، در مجموع به‌طور متوسط ۶۴/۳ درصد از افراد به درستی گروه بندی شدند، بطوریکه کلن ایرانی بی‌نام با ۹۰ درصد صحت، بیشترین، و کلن ایرانی ۴۲-۵۱ با ۲۰ درصد صحت، کمترین دقت را در تفکیک داشتند (جدول ۴). در تحقیقی که توسط اسدی و همکاران (۸) به منظور بررسی امکان تفکیک ۱۲ کلن صنوبر از چهار گونه



شکل ۱- میانگین شکل‌پذیری صفات در جمعیت و کلن. ستون‌ها نشان دهنده میانگین شکل‌پذیری صفات در جمعیت (بار نشان‌دهنده اشتباه معیار)، خط ممتد نشان‌دهنده میانگین شکل‌پذیری صفات در کلن‌ها و خطوط منقطع نشان‌دهنده میانگین شکل‌پذیری هر کلن می‌باشد (میانگین شکل‌پذیری کلن‌هایی که با یکدیگر تفاوت نداشتند نشان داده نشده است؛ میانگین شکل‌پذیری کلن ایرانی بی‌نام با رنگ قرمز متمایز شده است). نام اختصاری کلن‌ها در مواردی که تفاوت نرخ شکل‌پذیری بین آنها بیش از ۰/۲ است، به‌صورت برجسته‌هایی نشان داده شده است

Figure 1. Average of plasticity within population and clone. Columns represent the average of traits plasticity within population (bars represent standard error), solid line represents the average of traits plasticity within clones, and dashes represent the average of traits plasticity of individuals in each clones (The average of trait plasticity for clones with no significant differences were not shown; Average of plasticity for the anonymous Iranian clone is distinct with red lines). The abbreviated names of clones with differences greater than 0.2 have been represented as labels

جدول ۲- ضرایب تابع تشخیص کانونی استاندارد شده برای صفات مؤثر در تفکیک کلن‌های شالک
Table 2. Coefficients of standardized canonical discriminant functions for traits involved in black poplar clones differentiation

ویژگی	تابع اول	تابع دوم	تابع سوم
وزن تر برگ	۰/۸۹	۰/۳۵	۰/۳۹
نسبت ابعاد	-۰/۵۴	۰/۶۹	۰/۵۴
طول به پهنای برگ	۰/۳۱	-۰/۷۲	۰/۷۲
درصد واریانس توجیه شده	۵۶٪	۳۹٪	۵٪

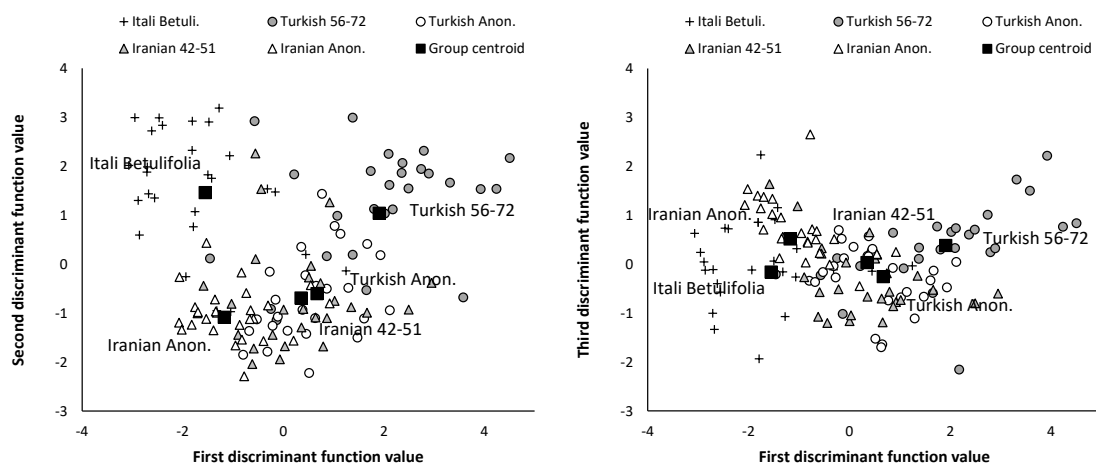
جدول ۳- ارزش توابع در مرکز هر گروه

کلن‌های شالک	تابع اول	تابع دوم	تابع سوم
ایرانی بی‌نام	-۱/۲۰ ^c	-۱/۰۰ ^c	-۰/۵۰ ^a
ایرانی ۴۲-۵۱	-۰/۱۵ ^b	-۰/۵۰ ^c	-۰/۰۳ ^b
ایتالیایی بتولی	-۱/۵۰ ^c	۱/۴۰ ^a	-۰/۱۳ ^c
ترکی بی‌نام	۰/۵۰ ^b	-۰/۷۰ ^c	-۰/۴۰ ^c
ترکی ۵۶-۷۲	۲/۰۰ ^a	۱/۰۰ ^b	۰/۳۰ ^{ab}

GGE بای‌پلات برای نشان دادن دو عامل اصلی ژنوتیپ (G) و برهمکنش ژنوتیپ $\times$ محیط ($G \times E$) در ارزیابی رقم استفاده می‌شود (۴۲). نمای چند ضلعی بای‌پلات (شکل ۲) بهترین راه برای تجسم برهمکنش‌های بین ژنوتیپ‌ها و محیط‌ها است (۴۰) و یکی از جالب‌ترین ویژگی‌های GGE است که به‌صورت گرافیکی مفاهیم اساسی از جمله سازگاری ویژه یک ژنوتیپ و تفکیک محیط‌های کلان (Mega-environment) را نشان می‌دهد (۳۱).

بررسی ساختار ژنتیکی و تمایز کلن‌ها نشان داد که بیشترین فاصله ژنتیکی بین کلن شالک ایرانی بی‌نام و کلن شالک ترکی ۵۶-۷۲ مشاهده می‌گردد (جدول ۵) به‌حویکه جریان ژن بین این دو کلن با توجه به صفات مورد بررسی نزدیک به صفر برآورد گردید (شکل ۴). از طرفی کمترین فاصله ژنتیکی بین کلن‌های ترکی بی‌نام و ایرانی ۴۲-۵۱ مشاهده می‌شود که در این بین به رغم دو سویه بودن جریان ژن بین این دو کلن شدت این جریان از ترکی به کرج (به دلیل اختلاف فنوتیپی کمتر) بیشتر برآورد می‌گردد. بررسی مقادیر جریان ژن برآورد شده نشان می‌دهد که بین اکثر کلن‌های مورد بررسی جریان ژن قابل توجهی وجود ندارد ($Nm < 1$) ولی جریان ژن قابل توجهی بین دو کلن ترکی بی‌نام و ایرانی ۴۲-۵۱ مشاهده شد.

نتایج آنالیز خوشه‌ای نشان داد که کلن‌های ایرانی بی‌نام، ایتالیایی بتولی و ترکی (بی‌نام و ۵۶-۷۲) در فاصله لینکاژ ۱۳ در سه خوشه متمایز قرار گرفتند (شکل ۳). افراد کلن‌های ایرانی بی‌نام و ایتالیایی بتولی به ترتیب با فاصله اقلیدوسی ۶ در دو خوشه مجزا و در فاصله اقلیدوسی ۱۸ با یکدیگر در یک خوشه قرار گرفتند. کلن شالک ایرانی ۴۲-۵۱ بیشترین ادغام را با دو کلن ترکی بی‌نام و ایرانی بی‌نام داشت. همچنین دو کلن ترکی بی‌نام و ترکی ۵۶-۷۲ بیشترین ادغام را با یکدیگر داشتند. با توجه به آمیختگی افراد گونه‌ها در خوشه‌های متمایز می‌توان نتیجه‌گیری نمود که برخی کلن‌ها نظیر ایتالیایی بتولی دارای کمترین اینترورگرسیون با کلن‌های مورد بررسی بود. همچنین کلن ایرانی ۴۲-۵۱ بیشترین اینترورگرسیون را با کلن‌های ایرانی و ترکی بی‌نام و به صورت یکطرفه نشان می‌دهد. موضوع ازدحام ژنتیکی یکطرفه در ساختار ژنتیکی گونه‌های مختلف صنوبر در مطالعات کیم و همکاران (۱۸) با استفاده از مطالعات مولکولی نشان داده شده است. بالای برهمکنش ژنوتیپ در محیط در مؤلفه اصلی دوم را نشان می‌داد، می‌توان از GGE بای‌پلات، برای تفسیر اثرهای اصلی ژنوتیپ (G) و برهمکنش ژنوتیپ در محیط (GE) بهره گرفت، به‌طوری‌که محور نخست این نمودارهای بای‌پلات اطلاعاتی درباره عملکرد و محور دوم درباره پایداری ژنوتیپ‌ها را فراهم می‌آورد (۲۱). تجزیه داده‌های آزمایش با روش



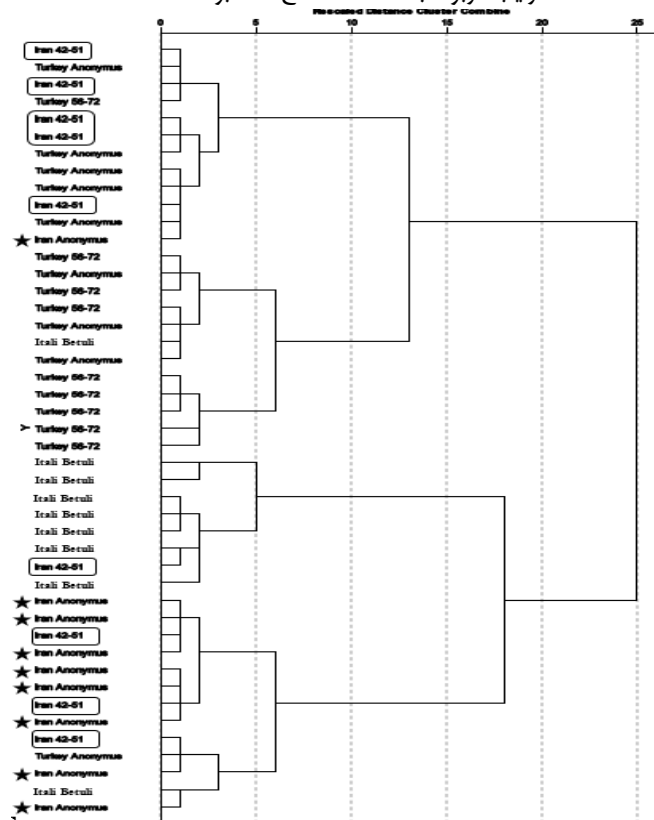
شکل ۲- پراکنش پایه‌های شالک بر اساس ارزش توابع تشخیص کانونی به همراه مختصات مرکز کلن‌ها
Figure 2. Scatter plot of black poplar individual trees based on the value of canonical discriminant functions together with their group centroid coordinates

جدول ۴- درصد صحت طبقه‌بندی برگ‌ها در کلن‌های مختلف به کمک آنالیز توابع تشخیص کانونی
Table 4. Percentage of leaves classification accuracy in different clones using canonical discriminant functions analysis

کل	عضویت برآورد شده					
	ترکی بی‌نام	ایرانی بی‌نام	ترکی ۵۶-۷۲	ایرانی ۴۲-۵۱	ایتالیایی بتولی	
۱۰۰	۴/۲	۱۲/۵	-	۴/۲	۷۹/۲	ایتالیایی بتولی
۱۰۰	۴۴	۲۰	۸	۲۰	۸	ایرانی ۴۲-۵۱
۱۰۰	۲۰	-	۷۰	۵	۵	ترکی ۵۶-۷۲
۱۰۰	۵	۹۰	-	-	۵	ایرانی بی‌نام
۱۰۰	۶۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵	-	ترکی بی‌نام
۶۴/۳	۶۲/۵	۹۰	۷۰	۲۰	۷۹/۲	صحت طبقه‌بندی

شدت جریان ژن در بین تمامی کلن‌ها، به استثنای دو کلن ایرانی ۴۲-۵۱ و ترکی بی‌نام، کمتر از یک بود و جهت غالب جریان ژن از کلن‌های بتولی و بی‌نام به سمت کلن‌های اصلاح شده بود.

خلاصه نتایج مربوط به تمایز فنوتیپی و ژنتیکی کلن‌ها (فاصله اقلیدوسی، فاصله ژنتیکی و شاخص تمایز استاندارد کل) به همراه برآوردهای مرتبط با شدت و جهت جریان ژن بین جمعیت‌ها در شکل ۴ نشان شده است. ضرایب مربوط به



شکل ۳- نمودار درختی حاصل از آنالیز خوشه‌ای کلن‌های صنوبر در بلوک‌های مختلف با استفاده از توابع تشخیص کانونی برای تفکیک کلن‌های شالک (پایه‌های مربوط به شالک ایرانی ۴۲-۵۱ با مستطیل و ایرانی بی‌نام با ستاره متمایز شده‌اند).

Figure 3. Dendrogram of cluster analysis of poplar clones in different blocks using canonical discriminant functions for differentiation of black poplar clones (Individuals related to Iranian black poplar 42-51 have been differentiated with rectangle, and the anonymous clones have been differentiated with stars)

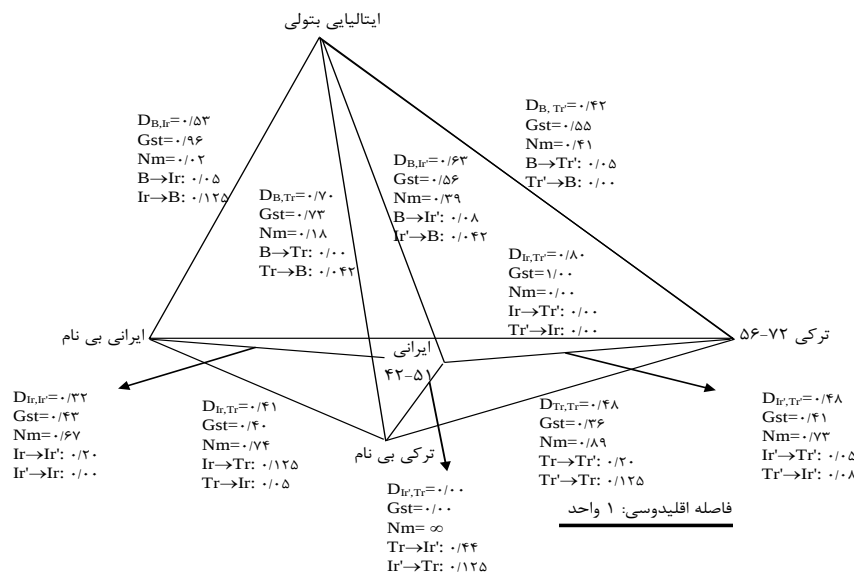
جدول ۵- فاصله اقلیدوسی (عناصر بالا مثلثی) و فاصله ژنتیکی استاندارد (عناصر پایین مثلثی) کلن‌های شالک مورد بررسی بر اساس ضرایب توابع کانونی استاندارد حاصل از صفات ریختاری برگ

Table 5. Euclidian distance (upper triangular elements) and standard genetic distance (lower triangular elements) for examined black poplar clones based on standardized canonical discriminant functions of morphologic traits

ایرانی بی‌نام	ایرانی بی‌نام	ایرانی ۴۲/۵۱	ایتالیایی بتولی	ترکی بی‌نام	ترکی ۵۶/۷۲
۰	۰	۱/۵۱	۲/۵۰	۱/۹۵	۳/۷۹
۰/۳۲	۰	۰	۲/۵۲	۰/۵۹	۲/۳۹
۰/۵۳	۰/۶۲	۰/۶۲	۰	۲/۹۱	۳/۵۴
۰/۴۱	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۷۰	۰	۲/۳۵
۰/۸۰	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۲	۰/۴۸	۰

بومی با ارقام و کلن‌های وارداتی مشاهده شد که حساسیت مدیریت منابع ژنتیکی کشور را بیش از پیش آشکار می‌کند. بر این اساس توصیه می‌گردد که کلن‌های وارداتی صنوبر تا حد امکان دور از توده‌های طبیعی آن کشت شوند.

در مجموع، در این بررسی ضمن بررسی مبسوط امکان مطالعه ساختار ژنتیکی بین کلن‌های مختلف، پتانسیل بالای توسعه برنامه‌های اصلاح نژاد صنوبر در ایران را مشروط به انتشار مشخصات دقیق ارقام و کلن‌های وارداتی نشان می‌دهد. همچنین نشانه‌هایی از خطر آلوده شدن منابع ژنتیکی



شکل ۴- تصویری شماتیک از میزان فاصله اقلیدوسی و برآوردی از فاصله ژنتیکی، شدت و جهت جریان ژن میان کلن‌های شالک. کلن‌های اصلاح نژاد شده که شماره رقم مشخصی دارند با علامت پریم «'» مشخص شده اند (برای مثال Ir' معادل ایرانی ۴۲-۵۱). (D) فاصله ژنتیکی؛ (Gst) شاخص تمایز استاندارد کل؛ (Nm) شدت جریان ژن؛ ($\rightarrow$) جهت جریان ژن

Figure 4. A schematic diagram representing Euclidian distances and estimated values of genetic distance, intensity and direction of gene flow between black poplar clones. Abbreviated names with prime (') are stand for the clones have identification number (i.e. Ir' is stand for Iranian clone with ID number 42-51). (D) Genetic distance; (Gst) standardized gene differentiation; (Nm) intensity of gene flow; ($\rightarrow$) direction of gene flow

همکاران بخش تحقیقات صنوبر و درختان سریع‌الرشد در مرکز تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور برای در اختیار قرار دادن قلمه کلن‌های صنوبر کمال تشکر را داریم.

تشکر و قدردانی

این مقاله که مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم شقایق حضرتی ارده جانی (تارخ دفاع بهمن ۱۳۹۲) می‌باشد، با حمایت مالی دانشگاه یاسوج انجام شده است. همچنین از

منابع

- Alimohamadi, A. and F. Asadi. 2020. Study of growth function of black poplar (*Populus nigra*) with Kermanshah and Zanjan origin in Karaj research station. Ecology of Iranian Forests, 7(2): 80-89.
- Alimohammadi, A., F. Asadi, E. Adeli, S.R. Tabaei-Aghdai and A. Mataji. 2010. Using morphological traits for identification of *Populus nigra* stands in Kermanshah and Zanjan provinces of Iran. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 17(3): 369-381.
- Alimohamadi, A., F. Asadi and R. Tadaie-Aghdai. 2015. Evaluation of growth and morphological parameters in two poplar species (*P. nigra* L. & *P. alba* L.) to tree growth reveal traits related to productivity (case study in Kermanshah, Zanjan and Esfahan provinces). Ecology of Iranian Forests, 3(1): 31-41.
- Ajayi, O.O., M.A. Adeleke, M.T. Sanni, A. Yakubu, S.O. Peters, I.G. Imumorin and O.A. Adebambo. 2012. Application of principal component and discriminant analyses to morpho-structural indices of indigenous and exotic chickens raised under intensive management system. Tropical animal health and production, 44(6): 1247-1254.
- Allendorf, F.W., R.F. Leary, P. Spruell and J.K. Wenburg. 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. Trends in Ecology & Evolution, 16(11): 613-622.
- Amiri, M. and D. Azadfar. 2009. Identification of *Populus nigra* clones (*Populus nigra* L.) in primary phase's growth in the north of Lorestan province, 22(1): 151-160.
- Asadi, F., M.A. Naderi-Shahab and H. Mirzaie-Nodoushan. 2004. Identity and genetic diversity of *Populus* species clones using microsatellite. Pajouhesh & Sazandegi, 66: 49-55.
- Asadi, F., H. Mirzaei-Nadushan, A.R. Modir-Rahmati and M.A. Naderi-Shahab. 2004b. Identification of poplar clones, using morphological markers. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 12(2): 267-300.
- Crispo, E. 2008. Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. Journal of evolutionary biology, 21(6): 1460-1469.
- Faugeron, S., M. Valero, C. Destombe, E.A. Martinez and J.A. Correa. 2001. Hierarchical spatial structure and discriminant analysis of genetic diversity in the red alga *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta). Journal of Phycology, 37(5): 705-716.

11. Ghasemi, R. and A. Modirrahmati. 2004. Investigation on wood production of different poplar clones in Karaj area. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 12(2): 250-221.
12. Grime, J.P. and J.M.L. Mackey. 2002. The role of plasticity in resource capture by plants. Evolutionary Ecology, 16(3): 299-307.
13. Gholami, Gh., A. Modirrahmati, R. Ghasemi and S.Z. Mirkazemi. 2014. Adaptation and wood production of different closed-crown poplar clones in Gorgan region, Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 22(3): 473-484.
14. Hankison, S.J., M.J. Childress, J.J. Schmitter-Soto and M.B. Ptacek. 2006. Morphological divergence within and between the Mexican sailfin mollies, *Poecilia velifera* and *Poecilia petenensis*. Journal of Fish Biology, 68(5): 1610-1630.
15. Hemmati, A. and A. Modir-Rahmati. 2005. Effects of spacing on yield of various clones of *Populus nigra* L.. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 13(3): 352-343.
16. Jensen, R.J., R. DePiero and B.K. Smith. 1984. Vegetative characters, population variation and the hybrid origin of *Quercus ellipsoidalis*. American Midland Naturalist, 364-370.
17. Kaluthota, S., D.W. Pearce, L.M. Evans, M.G. Letts, T.G. Whitham and S.B. Rood. 2015. Higher photosynthetic capacity from higher latitude: foliar characteristics and gas exchange of southern, central and northern populations of *Populus angustifolia*. Tree physiology, 35(9): 936-948.
18. Keim, P., K.N. Paige, T.G. Whitham and K.G. Lark. 1989. Genetic analysis of an interspecific hybrid swarm of *Populus*: occurrence of unidirectional introgression. Genetics, 123(3): 557-565.
19. Kovačević, B., V. Guzina and M. Kraljević-Balalić. 2000. Analysis of the discrimination ability of leaf morphometric parameters in eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) clones and hybrids. Genetika, 32(1): 19-30.
20. Lefèvre, F., D. Kajba, B. Heinze, P. Rotach, S.M.G. De Vries and J. Turok. 2001. Black poplar: A model for gene resource conservation in forest ecosystems. Forest Chronology, 77(2): 239-244.
21. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses (No. Ed. 2). Academic Press.
22. Manel, S., O.E. Gaggiotti and R.S. Waples. 2005. Assignment methods: matching biological questions with appropriate techniques. TRENDS in Ecology and Evolution, 20(3).
23. McDermott, J.M. and B.A. McDonald. 1993. Gene flow in plant pathosystems. Annual review of phytopathology, 31(1): 353-373.
24. Mohebbi Gargari, R., A. Bayat Kashkoli and V. Moazami. 2018. Survey of effective criteria for sustainable development of poplar wood farming in Iran by pair comparisons method, Iranian Journal of Wood and Paper Industries, 9(2): 235-249.
25. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. American naturalist, 283-292.
26. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences, 70(12): 3321-3323.
27. Noori, F., Y. Khodakarami, and A. Modir Rahmati. 2015. Comparison of growth and yield of 10 closed-crown *Populus nigra* clones in second utilization period. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 23(1): 134-142.
28. Petrakis, P.V., A. Agiomyrgianaki, S. Christophoridou, A. Spyros and P. Dais. 2008. Geographical characterization of Greek virgin olive oils (Cv. Koroneiki) using ¹H and ³¹P NMR fingerprinting with canonical discriminant analysis and classification binary trees. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(9): 3200-3207.
29. Sitzia, T., G. Barcaccia and M. Lucchin. 2018. Genetic diversity and stand structure of neighboring white willow (*Salix alba* L.) populations along fragmented riparian corridors: a case study. Silvae Genetica, 67(1): 79-88.
30. Tarasi, J., S.E. Sadeghi and P. Moradi. 2008. Study and comparing of density of spiral gall aphid, *Pemphigus spirothecae* (Hom. Pemphigidae) on ten clones of black poplar, *Populus nigra* and its natural enemies in Zanjan province. Pajouhesh-va-Sazandeghi, 20(4): 130-134.
31. Rostamikia, Y., A. Modirrahmati and M. Tabari. 2017. Growth characteristics of native and exotic clones of poplar in Ardabil nursery. Journal of Plnt Research, 30(2): 454-466.
32. Urfus, T., F. Krahulec and A. Krahulcová. 2014. Hybridization within a *Pilosella* population: a morphometric analysis. Folia Geobotanica, 1-16.
33. van Dam, B.C. 2002. EUROPOP: "Genetic diversity in river populations of European black poplar for evaluation of biodiversity; an international symposium held in Szekszárd, Hungary from 16-20 May, 2001. Budapest (Hungary), Csiszár Nyomda, 2002 (15-32 pp).
34. Viart, M. and O. Fugalli. 1998. History of the International Poplar Commission, 1947-1997.
35. Viger, M., H.K. Smith, D. Cohen, J. Dewoody, H. Trewin, M. Steenackers and G. Taylor. 2016. Adaptive mechanisms and genomic plasticity for drought tolerance identified in European black poplar (*Populus nigra* L.). Tree physiology, 36(7): 909-928.
36. Wei, Z.Z., X. Zhao, W. Pan, J.F. Zhang, B.L. Li and D.Q. Zhang. 2011. Phenotypic variation among five provenances of *Populus simonii*. Forestry Studies in China, 13(2): 97-103.
37. Whitlow, R. 1995. Basic soil mechanics, 3rd ed. Addison Wesley Longman Limited, Edingburg Gate.

Indirect Estimation of Genetic Structure and Gene Flow in Some Black Poplar (*Populus nigra*) Clones using Leaf Morphophysiological Traits

Shaghayegh Hazrati¹, Payam Fayyaz² and Roghayyeh Zolfaghari³

1- Graduated M.Sc. Student of Yasouj University Forestry, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Yasouj University, Yasuj, I.R. Iran

2- Associate Professor, Forest Biotechnology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Yasouj University, Yasuj, I.R. Iran, (Corresponding author: pfayyaz@yu.ac.ir)

3- Associate Professor, Forest Genetics and Ecophysiology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Yasouj University, Yasuj, I.R. Iran

Received: 13 September, 2020

Accepted: 2 November, 2020

Extended Abstract

Introduction and Objective: Extensive application of imported poplar clones, can lead to destruction of genetic resources. Determination of intensity and direction of gene flow between population origin, provided important information in order to orienting the improvement and conservation programs. In between, introducing some reliable morphological traits, those are important in clonal differentiation, could accelerate this process considering lower costs in compare with molecular markers.

Material and Methods: In present study five clones of black poplar (*Populus nigra*) in order to investigating the feasibility of clonal differentiation and estimating genetic parameters like genetic distance and gene flow by means of morphological markers were planted in a complete randomized block design by three replications in selection nursery of Yasouj university and leaf morphological traits of one-year-old saplings were investigated. Morphological traits related with leaf blade, dentation and lobe, vein, petiole, and tip and base shape of leaf was measured in late fall, and the feasibility of clonal differentiation using discriminant functions analysis and cluster analysis was investigated. Finally, by means of an integrating approach consists of predicting models of discriminant functions and cluster analysis of phylogenetic relations, genetic distance, and intensity and direction of gene flow between clones were discussed and investigated.

Results: The results of discriminant analysis revealed that leaf fresh weight, leaf virtual and actual aspect ratio, by 65 percent accuracy, had the highest effects in clonal differentiation of poplar clones. Among the investigated black poplar clones, the Iranian native clone with its small and narrow leaves was distinguished from the Turkish native clone, and other clones were in the middle. These variations were in accordance with the geographical location and climatic conditions of these clones. The native and breded Iranian clones had the lowest and highest amount of plasticity, respectively. Examination of the genetic structure of the clones showed that there was no significant gene flow between most of the studied clones, but significant gene flow was observed between the anonymous native Turkish clone and breded Iranian clones, and the direction of this flow was more from the Turkish to Iranian clone.

Conclusion: In conclusion, in general, there were few signs of hybrid swarm between Iranian native poplar with the other studied cultivars, but the widespread use of the improved Iranian poplar cultivars increases the need to pay attention to the protection of native genetic resources.

Keywords: Adaptive traits, Clonal differentiation, Discriminant function analysis, Gene flow, Genetic resources, Genetic distance