

تنوع و ساختار ژنتیکی سیب جنگلی ایران (*Malus orientalis Uglitzk*) در دو ناحیه رویشی هیرکانی و زاگرس با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

حمید بینا^۱، حامد یوسفزاده^{۲*}، بتول حسین پور^۳ و حمید عبدالمهی^۴

۱- دانشجوی دکتری جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. (hamid.bina67@gmail.com)

۲- استادیار، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی تربیت مدرس، تهران، ایران. (h.yousefzadeh@modares.ac.ir)

۳- دانشیار، پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران. (bhosseinpour@gmail.com)

۳- دانشیار، بخش باغبانی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، کرج، ایران. (habdollahi@yahoo.it)

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۹/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۰۹

چکیده

سیب قفقازی (*Malus orientalis Uglitzk*) یکی از گونه‌های جنگلی - باغی ایران است که در دو ناحیه رویشی هیرکانی و زاگرس در ایران پراکنش دارد. در این پژوهش تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت‌های سیب قفقازی ایران، با استفاده از ۲۶ نشانگر ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۰/۴۶ - ۰/۸۳ و غنای آلی بین ۱/۵۴ - ۱/۸۴ بود. در بیش از ۸۰ درصد رویشگاه‌ها هتروزیگوسیتی مشاهده شده در حد هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود و علائمی از بروز تنگنای ژنتیکی در هیچ یک از جمعیت‌ها مشاهده نشد. دامنه ضریب درون‌آمیزی برای سیب قفقازی در ناحیه رویشی هیرکانی بین ۰/۸۱ - ۰/۸۴ و ۰/۸۱ و برای ناحیه رویشی زاگرس بین ۰/۲ - ۰/۸۱ بود. میانگین جریان ژن نیز به ترتیب ۰/۲۴ و ۰/۶۹ برای ناحیه رویشی هیرکانی و زاگرس بود. تعادل هاردی-واینبرگ در تمامی رویشگاه‌های مورد بررسی به جز، رویشگاه‌های استان لرستان و رویشگاه دورک از استان گلستان برقرار بود. بررسی نتایج ساختار ژنتیکی نیز حاکی از شکل‌گیری سه ساختار کاملاً متمایز برای جمعیت‌های سیب قفقازی در ایران است. در تحلیل تجزیه به مولفه‌های اصلی ناحیه رویشی هیرکانی و زاگرس ساختار کاملاً متمایزی از یکدیگر نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: تنگنای ژنتیکی، سیب جنگلی، جریان ژنی، ژنتیک حفاظت.

M. sieversii و با گونه (Gharghani et al., 2009)

M. Roem (Lebed) که یکی از اجداد اصلی گونه *M. domestica* است؛ ارتباط ژنتیکی بالایی دارد. در ایران به علت دخالت‌های گسترده انسان در طبیعت و تخریب رویشگاه‌ها، این گونه در وضعیت مطلوبی قرار ندارد و وقوع پدیده قطعه‌قطعه‌شدن رویشگاه‌های سیب قفقازی، حفاظت و تنوع ژنتیکی این گونه را که منبع مهمی برای اصلاح گونه‌های سیب باغی در سراسر دنیا است؛ با چالش روبه‌رو کرده است (Khodadoost et al., 2017).

در حال حاضر از ابزارهای مختلفی برای شناسایی و حفاظت از ژنوتیپ‌های ارزشمند وحشی و یا فرزندان به‌جای مانده از آن‌ها استفاده می‌شود. شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره، ابزاری قدرتمند برای بررسی هیبریداسیون و شناسایی واحدهای حفاظتی در بین گونه‌ها هستند (Wiens, 2011). از برتری‌های نشانگرهای ریز ماهوره می‌توان به انعطاف‌پذیر نبودن آن‌ها در زمینه تکامل همگرا و همچنین صحت اطلاعات آن‌ها در مورد ساختار ژنتیکی گونه‌ها اشاره کرد. پژوهش‌های گذشته که در مورد ساختار ژنتیکی سیب قفقازی در اروپا و ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره انجام شد، اغلب ساختار ژنتیکی خیلی ضعیفی از این گونه را بر اساس منطبق بودن بر مناطق جغرافیایی نشان داد (Cornille et al., 2013; Cornille et al., 2014; Gharaghani et al., 2016). از دیگر پژوهش‌هایی که در زمینه ساختار ژنتیکی سیب‌های قفقازی در ایران انجام شد می‌توان به بررسی (Rostami et al., 2019) و Amirchakhmaghi et al. (2018) اشاره کرد؛ که نتایج آن‌ها شباهت بسیار بالای مناطق مورد بررسی را از نظر ساختار ژنتیکی از همدیگر نشان داد. بنابراین این پژوهش با استفاده از ۲۶ نشانگر ریزماهوره در نظر دارد؛ (۱) شاخص‌های عددی تنوع ژنتیکی سیب قفقازی در دو ناحیه هیرکانی و

قطعه‌قطعه‌شدن رویشگاه‌ها، فعالیت‌های انسانی و ناشناخته‌ماندن الگوهای تولید مثلی در بسیاری از گیاهان، حفظ تنوع ژنتیکی گیاهان را به یک چالش بزرگ تبدیل کرده است. به‌طور معمول قطعه‌قطعه‌شدن رویشگاه اثرهای زیانباری در کیفیت رویشگاه‌ها، چشم‌انداز رویشگاه‌ها، اندازه جمعیت‌ها (Ne)، تولیدمثل جمعیت‌ها، پویایی تکامل جمعیت‌ها و افزایش نرخ انقراض گونه‌ها خواهد داشت (Evenson and Gollin, 2003).

سیب وحشی قفقازی (*M. orientalis*) یکی از گونه‌هایی است که با وجود ارزش‌های اکولوژیکی و اقتصادی بالا، بررسی‌های کمی در مورد ساختار ژنتیکی آن انجام شد. این گونه در طول زمان از ناحیه قفقاز منشأ پیدا کرده و به‌سمت ارمنستان، Trans Caucasus و تمدن یونان باستان حرکت کرده و در امتداد جاده ابریشم به‌سمت ترکیه و اروپا مهاجرت کرد (Mittermeier et al., 1999). سیب وحشی قفقازی در ایران، در نواحی رویشی هیرکانی و زاگرس در امتداد جاده ابریشم به‌صورت لکه‌ای گسترش یافته و یکی از منابع مهم برای غذا، داروهای مختلف و اصلاح نژاد گونه‌های باغی سیب در این نواحی است (Cornille et al., 2014). این گونه به‌صورت گسترده در ناحیه قفقاز و اروپا نسبت به شرایط مختلف آب و هوایی سازگار شد؛ اما بیشتر در مناطق سنگلاخی حضور دارد. از نظر شکل رویشی و میوه، سیب قفقازی بسیار متنوع است. مردم نواحی اوراسیا از میوه، چوب و خواص دارویی این گونه در طب سنتی استفاده می‌کردند. ارقام محلی از این گونه در نواحی قفقاز به‌صورت گسترده‌ای کشت می‌شوند (Fischer and Schmidt, 1938). بیشتر پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که سیب قفقازی یکی از اجداد گونه *M. domestica* Borkh است

زاگرس را مشخص کند؛ ۲) و همچنین جریان ژنی، احتمال فرسایش ژنتیکی و مقدار تمایز جمعیت‌های سیب قفقازی را در رویشگاه‌های هیرکانی و زاگرس بررسی کند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

برای انجام این پژوهش، نمونه‌برداری از برگ سیب قفقازی در ناحیه رویشی هیرکانی (پنج درخت از یک رویشگاه در استان گیلان؛ ۶۰ درخت از شش رویشگاه در استان مازندران؛ ۶۷ درخت از هفت رویشگاه در استان گلستان) و ناحیه رویشی زاگرس (۱۳ درخت از سه رویشگاه در استان کردستان؛ ۲۲ درخت از سه رویشگاه در استان لرستان) انجام شد (جدول ۱). برای استخراج DNA ژنومی از برگ سیب قفقازی از کیت استخراج NucleoSpin (Macherey and Nagel, Germany) استفاده شد و در مرحله بعد واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز Multiple microsatellite PCR با استفاده از ۲۶ نشانگر ریزماهواره گزارش شده که روی ۱۷ کروموزوم سیب دارای جایگاه هستند، انجام شد (Patocchi et al., 2009). برای خوانش طول باند هر یک از نشانگرها، محصولات PCR به شرکت Qiagen ارسال شد. پس از دریافت داده‌های اولیه، نمونه‌هایی که بیش از ۲۰ درصد طول باندهایشان فاقد اطلاعات بود، حذف شدند. در مرحله بعد تمامی نمونه‌ها در سه مرحله با استفاده از نرم‌افزار GeneMapper ویرایش چشمی شدند و داده‌های اولیه به‌دست آمد.

تجزیه و تحلیل ژنتیکی

اولین گام در تجزیه و تحلیل ژنتیکی شناسایی پایه‌های پلی‌پلوئید است. افرادی که در الکتروگرام دارای چندین

نقطه اوج بودند از مجموعه داده‌ها حذف شدند. برای یافتن غنای آلی از نرم‌افزار ADZE استفاده شد (Szpiech et al., 2008). برای بررسی ساختار جمعیت‌ها و بررسی نسب ساختارهای به‌دست آمده از روش Admixture و نرم‌افزار STRUCTURE 2.3.3 و TESS استفاده شد (Pritchard et al., 2000; Hubisz et al., 2009). تغییرات مقدار عددی K برای جمعیت‌های مورد بررسی از ۲ تا ۱۰ در نظر گرفته شد (Cornille et al., 2013). در مجموع برای هر K، ده تکرار به‌صورت مستقل و با در نظر گرفتن MCMC=۱۰۰۰۰۰۰ و Burn-in=۵۰۰۰۰ و بسته CLUMPP (الگوریتم Greedy) استفاده شد (Szpiech et al., 2008). در نهایت در نمودار دلتا بهترین مقدار عددی K برای انتخاب و ساختار مناسب استفاده شد (شکل ۱b). برای محاسبه هتروزیگوسیتی، انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ، عدم همبستگی گونه‌ها، ضریب درون‌آمیزی و فاصله ژنتیکی از نرم‌افزار GENEPOP 4.0 استفاده شد (Rousset, 2008). برای تحلیل فراوانی آلل‌ها در موقعیت‌های مکانی مختلف (Alleles In Space) از نرم‌افزار AIS version 1.0 استفاده شد (Miller, 2005). بررسی آزمون تنگنای ژنتیکی جمعیت‌های سیب جنگلی ایران، با استفاده از آزمون‌های سیگن و ویلکاکسون و مدل‌های آلی نامحدود (IAM) و جهش گام به گام (SMM) با استفاده از نرم‌افزار BOTTLENECK 1.2.02 انجام شد (Piry et al., 1999).

نتایج

تنوع ژنتیکی سیب قفقازی در ایران

بر اساس تعداد آلل‌های مشاهده در بین جمعیت‌ها، رویشگاه‌های گزناسرا، تیلک و وطن‌به‌ترتیب با تعداد ۱۴/۹، ۱۳/۵۶ و ۱۳/۳۴ بیشترین تعداد آلل مشاهده شده

را داشتند و رویشگاه‌های اسالم، ارسام، سقز و درود به‌ترتیب با مقادیر ۴/۷۳، ۳/۶۹، ۱/۸۰ و ۳/۵ دارای کمترین تعداد آل مشاهده شده بودند. بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی در رویشگاه‌های سنگده، اسالم و آب اسک (۰/۸۳، ۰/۸۱، ۰/۸۰) و کمترین مقادیر در رویشگاه‌های واز، گرگان و بوفلو (۰/۴۶، ۰/۴۵، ۰/۵۸) مشاهده شد (جدول ۱). جمعیت‌های سقز، آب اسک و ارسام (۱/۸۴، ۱/۸، ۱/۸۱) بیشترین مقدار و جمعیت‌های درود، نوزیان، گرین و ارسام (۱/۵۴، ۱/۶۰، ۱/۶۹، ۱/۶۲) دارای کمترین مقدار غنای آلی بودند. از نظر آل‌های اختصاصی نیز جمعیت‌های بوفلو و اسالم (۰/۳۵، ۰/۳۱) دارای بیشترین مقدار و جمعیت‌های ارسام، توسکستان و دورک (۰/۷۰، ۰/۷۰، ۰/۶۰) دارای کمترین مقدار بودند (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات مناطق نمونه‌برداری شده و شاخص‌های تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایران

Table 1. Characteristic of sampling regions and indexes of genetic diversity in Iranian populations

آزمون هاردی- واینبرگ Weinberg test	آل‌های اختصاصی Allelic private	غنای آلی Allelic richness	تعداد آل Number of alleles	ضریب درون آمیزی Inbreeding coefficient	هتروزیگوسیتی Expected heterozygosity	هموزیگوسیتی Observed heterozygosity	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	تعداد افراد Number of samples	رویشگاه Habitat	استان Province
ns	0.31	1.81	4.73	0.07	0.81	0.75	48.86	37.75	5	اسالم	
ns	0.19	1.80	8.30	-0.00	0.80	0.81	52.62	36.29	9	اب اسک	گیلان Gilan
ns	0.24	1.78	8.07	0.11	0.83	0.73	53.28	36.10	9	سنگده	
ns	0.25	1.75	14.19	0.00	0.76	0.76	53.09	36.33	16	گزناسرا	
ns	0.19	1.74	3.46	0.03	0.78	0.75	53.37	36.54	4	شیت	مازندران Mazandaran
ns	0.21	1.75	12.73	-0.08	0.69	0.75	53.61	36.07	14	تیلک	
ns	0.18	1.75	8.42	-0.83	0.46	0.85	52.94	36.01	8	واز	
ns	0.19	1.70	13.65	0.81	0.45	0.82	54.30	36.71	14	گرگان	
ns	0.21	1.77	13.34	0.03	0.70	0.67	53.99	36.66	14	وطنا	

آزمون هاردی- واینبرگ (ns: عدم معنی داری، $P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$)

Weinberg test (ns, *, * * And ***, respectively, were not significant and significant at the level of $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.001$)

ادامه جدول ۱.

Continued table 1.

آزمون هاردی-واینبرگ Weinberg test	آل‌های اختصاصی Allelic private	غناي آللی Allelic richness	تعداد آلل Number of alleles	ضریب درون آمیزی Inbreeding coefficient	هتروزایگوسیتی Expected heterozygosity	هموزایگوسیتی Observed heterozygosity	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	تعداد افراد Number of samples	رویشگاه Habitat	استان Province
ns	0.21	1.74	6.76	-0.01	0.75	0.76	55.13	36.90	7	شش آب Sheshab	گلستان Golestan
ns	0.17	1.62	3.69	-0.02	0.71	0.73	54.66	36.67	4	ارسام Arsam	
ns	0.17	1.73	9.38	0.05	0.74	0.70	54.53	36.76	10	توسکستان Toskestan	
*	0.16	1.78	8.65	0.08	0.76	0.70	54.38	36.75	9	دورک Dorak	
ns	0.20	1.75	5.23	0.05	0.74	0.70	55.10	36.79	9	سیامرزکوه Siamarzkoh	
ns	0.26	1.77	5.67	0.00	0.72	0.72	46.34	35.40	6	مرویوان Marivan	
ns	0.31	1.84	1.80	-0.08	0.79	0.79	46.60	36.46	2	سقر Sagez	کردستان Kurdistan
ns	0.35	1.87	4.57	-0.02	0.70	0.70	46.23	33.26	5	بوفلو Buflo	
**	0.16	1.69	9.42	0.02	0.72	0.72	48.86	33.59	10	سفیدکوه Sepedkoh	
**	0.11	1.66	7.53	0.06	0.65	0.65	48.58	33.23	8	نوژیان Nozhyan	لرستان Lorestan
*	0.14	1.54	3.50	-	-	-	49.31	33.24	4	درود Droud	

آزمون هاردی-واینبرگ (ns: عدم معنی داری، $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

Weinberg test (ns, *, * * And ***, respectively, were not significant and significant at the level of $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.001$)

ساختار و تمایز ژنتیکی

(جدول ۲). علاوه بر آن مقایسه دو به دو شاخص تثبیت (Fst) در رویشگاه‌های نمونه‌برداری شده، نشان از تمایز بین رویشگاه‌های متعلق به استان گلستان با دیگر رویشگاه‌های مورد بررسی در این پژوهش را دارد. بر اساس این شاخص دو رویشگاه درود و نوژیان نیز از همدیگر متمایز هستند ($P \leq 0.05$: جدول ۴).

مقدار تنوع مشاهده شده در سیب‌های قفقازی ایران بر اساس دو رویشگاه اصلی این گونه در ایران (هیرکانی و زاگرس) چهار درصد مشاهده شد. به عبارت دیگر سهم قابل توجهی از تفاوت در تنوع مشاهده شده در سیب‌های جنگلی ایران بر اساس آزمون AMOVA، اختصاص به محل رویشگاه و ناحیه رویشی نشان داد

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مولکولی در جمعیت‌های سیب قفقازی در پنج استان مورد بررسی

Table 2. The result of AMOVA test Caucis's apples among five provinces in this study

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	اجزاء واریانس	درصد واریانس	اختلاف معنی داری
Source of changes	Degrees of freedom	Sum of squares	Components of variance	Percentage of Variance	Significant
بین دو رویشگاه هیرکانی و زاگرس Between Hyrcanian forest and Zagros forest	1	74.71	0.45	4	P < 0.05
بین جمعیت‌های دو رویشگاه هیرکانی و زاگرس Between populations from Hyrcanian forest and Zagros forest	18	454059	0.87	8	P < 0.05
بین نمونه‌ها Among samples	147	1573.85	0.88	8	
درون نمونه‌ها within samples	167	1493	8.94	80	
مجموع Total	333	3596.15	11.15	100	

آزمون تنگنای ژنتیکی

هتروزیگوسیتی اضافی در اثر کاهش اندازه مؤثر جمعیت‌ها است و مقادیر منفی نشان از گسترش جمعیت بدون آلل‌های نادر است (Piry et al., 1999). بر اساس این پارامتر در مدل جهش گام به گام جمعیت‌های ارسام، دورک و نوژیان کاهش اندازه مؤثر جمعیت‌ها رخ داده است (جدول ۳).

در تمامی جمعیت‌های سیب جنگلی، تعداد مورد انتظار جایگاه‌های ژنی با هتروزیگوسیتی اضافی از تعداد مکان‌های ژنی با کمبود هتروزیگوسیتی بیشتر بود، بر این اساس فرض صفر که بر اساس آن، جمعیت در تعادل جهش-رانس (Mutation-drift) است، پذیرفته می‌شود. مقادیر مثبت در پارامتر T2 نشان از بروز تنوع

جدول ۳- آنالیز تنگنای ژنتیکی در جمعیت‌های مورد بررسی بر اساس ۲۶ نشانگر ریزماهواره

Table 3. The result of Bottleneck among populations based on 26 microsatellites marker

آزمون استاندارد شده تفاوت		آزمون ویلکاکسون		آزمون سیگن		جمعیت				
Standardized differences test		Wilcoxon test		Sign test						
SMM	IAM	SMM	IAM	SMM	IAM	Population				
احتمال	T2	احتمال	T2	احتمال	H _e /H _d	H _e /H _d				
0.364	-0.348	0.327	0.446	0.691	0.758	0.758	16/10	0.488	14/12	اسالم Asalem
0.133	-1.112	0.030	1.867	0.104	0.993	0.038	20/6	0.004	20/6	اب اسک Abesk

He: تعداد مورد انتظار جایگاه‌های ژنی با هتروزیگوسیتی اضافی، Hd: تعداد مورد انتظار جایگاه‌های ژنی با کمبود هتروزیگوسیتی، IAM: مدل آلی نامحدود، SMM: مدل جهش گام به گام

Expected number of loci with heterozygosity excess (He), Expected number of loci with heterozygosity deficiency (Hd), Infinite Alleles Model (IAM), Stepwise Mutation Model (SMM)

ادامه جدول ۳.

Continued table 3.

آزمون استاندارد شده تفاوت		آزمون ویلکاکسون		آزمون سیگن		جمعیت				
Standardized differences test		Wilcoxon test		Sign test		Population				
SMM		IAM		SMM		IAM				
احتمال	T2	احتمال	T2	احتمال	احتمال	احتمال	H _e /H _d	احتمال	H _e /H _d	
0.000	-3.387	0.318	0.472	0.093	0.781	0.162	12/14	0.444	16/10	سنگده Sangdeh
0.000	-3.359	0.026	1.934	0.041	0.992	0.026	16/10	0.208	18/8	گزناسرا Gaznasara
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	شیت Shit
0.000	-3.85	0.065	1.507	0.020	0.978	0.025	16/10	0.25	18/8	تیلک Tilak
0.137	-1.09	0.032	1.841	0.226	0.994	0.0100	12/14	0.061	19/7	واز Vaz
0.023	-1.98	0.010	2.13	0.090	0.993	0.059	15/11	0.017	21/5	گرگان Gorgan
0.000	-3.837	0.060	1.548	0.012	0.970	0.055	15/11	0.226	18/8	وطنا Vatna
0.050	-1.637	0.137	1.091	0.064	0.932	0.043	15/11	0.309	17/9	شش آب Sheshab
0.308	1.763	0.000	3.129	0.966	0.997	0.038	20/6	0.004	20/6	ارسام Arsam
0.000	-3.896	0.198	0.848	0.047	0.955	0.111	14/12	0.301	17/9	توسکستان Toskestan
0.131	1.119	0.000	3.706	0.94	1	0.524	16/10	0.000	24/2	دورک Dorak
0.003	-2.689	0.090	1.340	0.042	0.975	0.087	15/11	0.318	21/5	سیامرزکوه Siamarzkoh
0.403	0.245	0.005	2.530	0.917	0.999	0.358	17/9	0.002	22/4	مرویوان Marivan
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	سقز Sagez
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	بوفلو Buflo
0.126	-1.41	0.010	2.322	0.353	0.996	0.514	16/10	0.178	18/8	سفیدکوه Sepedkoh
0.008	2.402	0.000	4.417	0.999	1	0.008	21/5	0.000	24/2	نوزیان Nozhyan
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	درود Droud

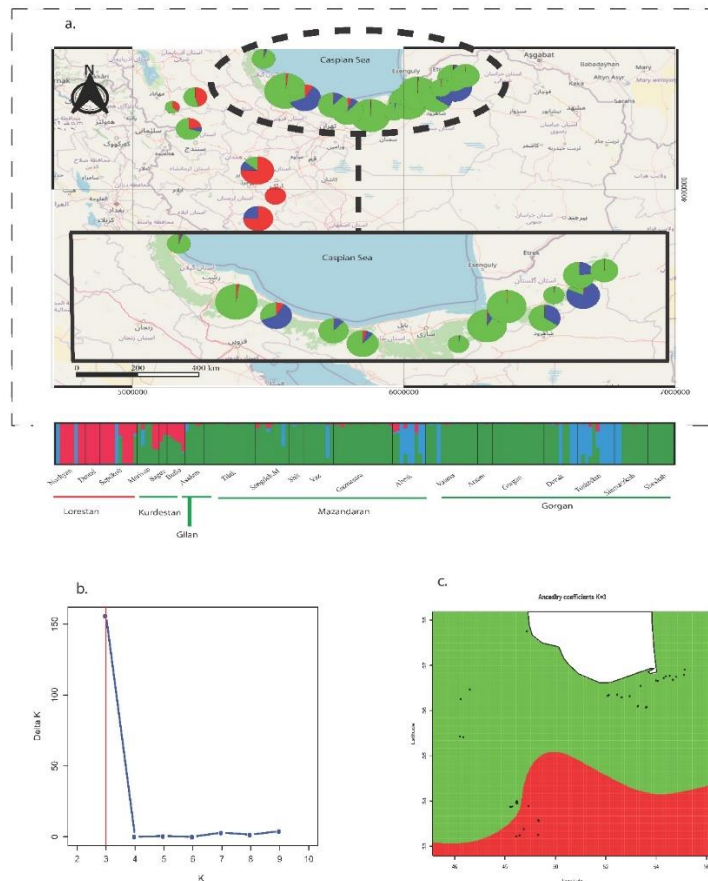
He: تعداد مورد انتظار جایگاه‌های ژنی با هتروزیگوسیتی اضافی، Hd: تعداد مورد انتظار جایگاه‌های ژنی با کمبود هتروزیگوسیتی، IAM: مدل آلی نامحدود، SMM: مدل جهش گام به گام

Expected number of loci with heterozygosity excess (He), Expected number of loci with heterozygosity deficiency (Hd), Infinite Alleles Model (IAM), Stepwise Mutation Model (SMM)

ساختار خوشه‌بندی ژنتیکی

وطن، ارسام، گرگان دورک، سیامرزکوه و شش آب) در گروه سبز قرار گرفتند. در این بین نمونه‌های آب اسک مازندران و توسکستان گرگان در گروه آبی قرار گرفتند. به‌طور کلی تحلیل STRUCTURE، سطح بالایی از مقدار ناهمگنی و تفاوت ژنتیکی را بر اساس ناحیه ریشی در بین نمونه‌های ایران نشان داد (شکل ۱a). نتایج ساختار TESS نشان داد که جمعیت‌های متعلق به سه استان شمالی ایران و کردستان دارای یک منشأ مشترک بوده و جمعیت‌های لرستان به تنهایی دارای منشأ جداگانه هستند (شکل ۱b).

پس از رسم بارپلات‌های حاصل از STRUCTURE برای $K=2$ تا $K=10$ بر اساس نمودار دلتا K ، مقدار عددی $K=3$ ، به‌عنوان بهترین K برای تعداد ساختار متمایز ژنتیکی سیب قفقازی ایران انتخاب شد (Li and Liu, 2018) (شکل ۱). بر این اساس تحلیل نمونه‌های مربوط به استان لرستان (ناحیه ریشی زاگرسی) به‌صورت کامل در گروه قرمز، نمونه‌های استان کردستان به حالت ترکیبی در گروه قرمز و سبز قرار گرفتند. جمعیت‌های مربوط به بخش‌های غربی هیرکانی (اسالم گیلان) و مرکزی هیرکانی (تیلک، سنکده، شیت، واز، گزناسرا،



شکل ۱- a: ساختار ژنتیکی سیب قفقازی ایران ($N=167$) بر اساس تحلیل STRUCTURE برای مقدار $K=3$ با استفاده از ۲۶ نشانگر، b: نمودار دلتا K برای سیب‌های قفقازی ایران، c: اجداد سیب‌های قفقازی ایران بر اساس تحلیل TESS در مقدار عددی $K=3$

Figure 1. a: Genetic structure of Iranian Caucasus's apples ($N=167$) based on STRUCTURE for $K=3$, using 26 microsatellite markers; Plot of delta K values for Iranian Caucasus's apples, c: Ancestry coefficients $K=3$ for Iranian Caucasus's apples based on TESS analysis at the value $K=3$.

جدول ۴- مقدار جریان ژنی (Nm) و تمایز (Fst) بین ۲۰ جمعیت مورد بررسی بر اساس ۲۶ نشانگر ریزماهوره

Table 3. Gene flow (Nm) and genetic differentiation (Fst) among 20 populations based on 26 microsatellites marker

نوزیان Nozhyan	درود Droud	سپیدکوه Sepdkoh	مریوان Marivan	سغز Sagez	بوفلو Bufloo	اسالم Asalem	تیلک Tilak	سنگده Sngdeh	شیت Shit	واز Vaz	گزناسرا Gaznasara	آب اسک Abesk	واتنا Vatna	ارسام Arsam	گوغان Gorgan	دورک Dorak	توسکستان Toskestan	سیامرزکوه Siamarzkoh	شش آب Sheshab	رویشگاه Habitat	استان Province
0	0.04*	0.11	0.12	0.17	0.12	0.14	0.13	0.11	0.17	0.13	0.12	0.09	0.12	0.17	0.14	0.1	0.11	0.11	0.13	نوزیان Nozhyan	لرستان Lorestan
0.07	0	0.17	0.18	0.23	0.17	0.21	0.19	0.17	0.24	0.2	0.18	0.18	0.18	0.23	0.2	0.18	0.2	0.18	0.2	درود Droud	لرستان Lorestan
0.62	0.72	0	1.1	0.13	0.18	0.1	0.09	0.09	0.14	0.1	0.08	0.08	0.08	0.16	0.11	0.09	0.1	0.09	0.11	سپیدکوه Sepdkoh	
0.85	0.92	0.65	0	0.13	0.09	0.08	0.07	0.07	0.11	0.08	0.06	0.08	0.05*	0.13	0.08	0.07	0.1	0.07	0.07	مریوان Marivan	کردستان Kurdistan
0.97	1.02	0.72	0.8	0	0.12	0.12	0.13	0.12	0.17	0.15	0.13	0.15	0.14	0.21	0.15	0.15	0.18	0.14	0.14	سغز Sagez	کردستان Kurdistan
0.84	0.83	0.56	0.71	0.67	0	0.09	0.09	0.09	0.15	0.11	0.09	0.1	0.09	0.15	0.11	0.09	0.13	0.1	0.1	بوفلو Bufloo	
1.15	1.2	0.67	0.6	0.72	0.67	0	0.07	0.06	0.1	0.08	0.06	0.09	0.06	0.14	0.09	0.09	0.12	0.1	0.07	اسالم Asalem	گیلان Gilan
0.98	1.04	0.64	0.46	0.87	0.72	0.49	0	0.05*	0.08	0.05*	0.04*	0.08	0.04*	0.12	0.06	0.07	0.12	0.05*	0.04*	تیلک Tilak	گیلان Gilan
0.77	0.87	0.65	0.5	0.76	0.68	0.5	0.35	0	0.1	0.06	0.04*	0.08	0.05*	0.1	0.07	0.06	0.1	0.05*	0.05*	سنگده Sngdeh	
1.14	1.29	0.89	0.66	1.02	1.14	0.65	0.45	0.6	0	0.09	0.08	0.11	0.07	0.17	0.1	0.11	0.15	0.09	0.08	شیت Shit	
0.9	1.03	0.67	0.52	1.06	0.87	0.58	0.31	0.41	0.51	0	0.04*	0.08	0.04*	0.12	0.07	0.07	0.1	0.05*	0.05*	واز Vaz	مازندران Mazandara
0.87	0.9	0.56	0.43	0.88	0.66	0.42	0.24	0.32	0.46	0.27	0	0.09	0.04*	0.11	0.06	0.06	0.11	0.05*	0.04*	گزناسرا Gaznasara	مازندران Mazandara
0.6	0.92	0.58	0.63	1.21	0.89	0.83	0.75	0.71	0.83	0.59	0.77	0	0.07	0.15	0.1	0.07	0.02*	0.07	0.09	آب اسک Abesk	

جریان ژنتیکی (قسمت چپ) (Nm) و شاخص تنبیت (Fst) (قسمت راست) (* معنی داری در سطح $p \leq 0.05$)

Gene flow (Nm; Left section) and genetic differentiation (Fst) (Right section), (*significant at the level of $p \leq 0.05$)

ادامه جدول ۴.
Continued table 4.

نوزیان Nozhyan	درد Droud	سپیدکوه Sepdkoh	مریوان Marivan	سغز Sagez	بو فلر Buflo	اسالم Asalem	تیلک Tilak	سنگده Sngdeh	شیت Shit	واز Vaz	گزناسرا Gaznasara	آب اسک Abesk	وطن Vatna	ارسام Arsam	گرگان Gorgan	دورک Dorak	توسکستان Toskestan	سیامرزکوه Siamarzkoh	شش آب Sheshab	رویشگاه Habitat	استان Province
0.94	1.04	0.56	0.39	0.99	0.71	0.48	0.3	0.39	0.42	0.3	0.25	0.64	0	0.11	0.04*	0.05*	0.09	0.04*	0.04*	وطن Vatna	
0.93	0.04	0.87	0.72	1.16	0.58	0.76	0.57	0.49	0.81	0.6	0.55	0.98	0.52	0	0.11	0.11	0.18	0.1	0.11	ارسام Arsam	
0.95	1.01	0.67	0.47	0.99	0.79	0.58	0.37	0.45	0.5	0.41	0.35	0.83	0.25	0.52	0	0.05*	0.12	0.07	0.05*	گرگان Gorgan	
0.67	0.96	0.62	0.53	1.15	0.7	0.74	0.5	0.47	0.69	0.48	0.42	0.57	0.35	0.55	0.31	0	0.07	0.05*	0.06	دورک Dorak	گلستان Golestan
0.67	1.13	0.68	0.8	1.47	1.23	1.15	1.05	0.89	1.07	0.78	1.01	0.14	0.75	1.16	0.93	0.52	0	0.08	0.11	توسکستان Toskestan	
0.76	0.98	0.64	0.52	1.03	0.87	0.78	0.37	0.38	0.58	0.31	0.34	0.55	0.32	0.49	0.44	0.37	0.64	0	0.04*	سیامرزکوه Siamarzkoh	
1	1.08	0.79	0.46	0.93	0.78	0.55	0.28	0.38	0.47	0.3	0.29	0.82	0.24	0.51	0.26	0.41	0.49	0.26	0	شش آب Sheshab	

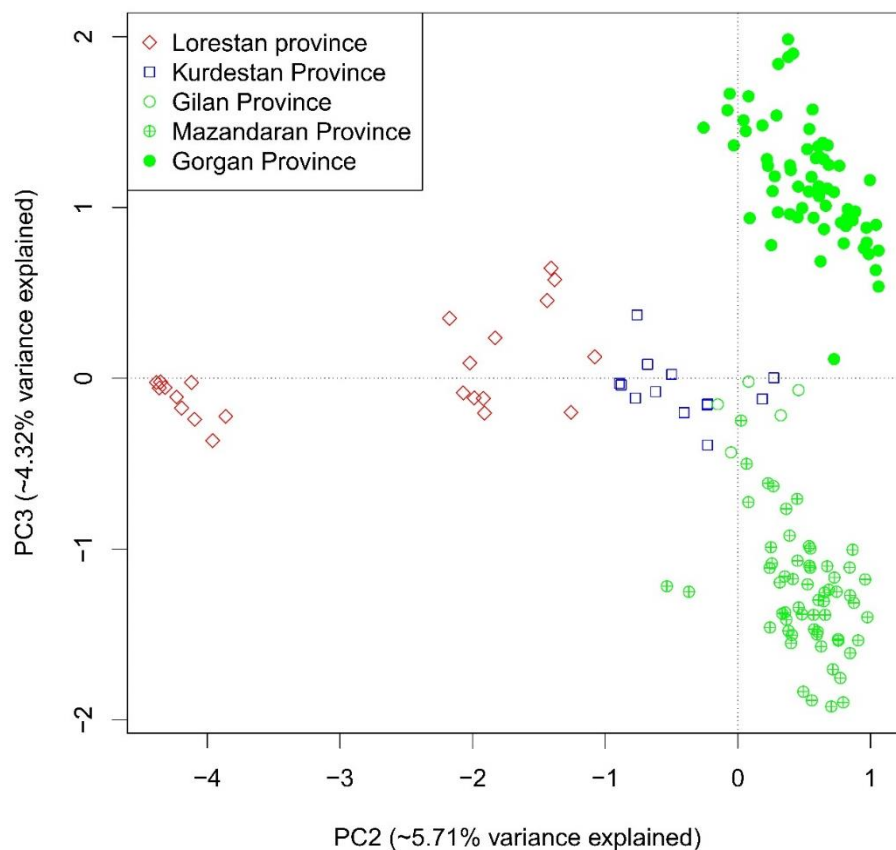
جریان ژنتیکی (قسمت چپ) (Nm) و شاخص تثبیت (Fst) (قسمت راست) (* معنی داری در سطح $p \leq 0.05$)

Gene flow (Nm; Left section) and genetic differentiation (Fst) (Right section), (*significant at the level of $p \leq 0.05$)

تجزیه به مولفه‌های اصلی

بررسی روابط بین جمعیتی براساس تجزیه به مولفه‌های اصلی در محور اول و دوم به ترتیب ۵/۲۸ و ۴/۴۵ درصد از واریانس بین جمعیت‌ها را توجیه می‌کند. بر این اساس جمعیت‌های ناحیه رویشی زاگرس به دو گروه مجزا از همدیگر تقسیم شدند و هیچ‌گونه هم‌پوشانی با همدیگر ندارند. همچنین جمعیت‌های متعلق به ناحیه

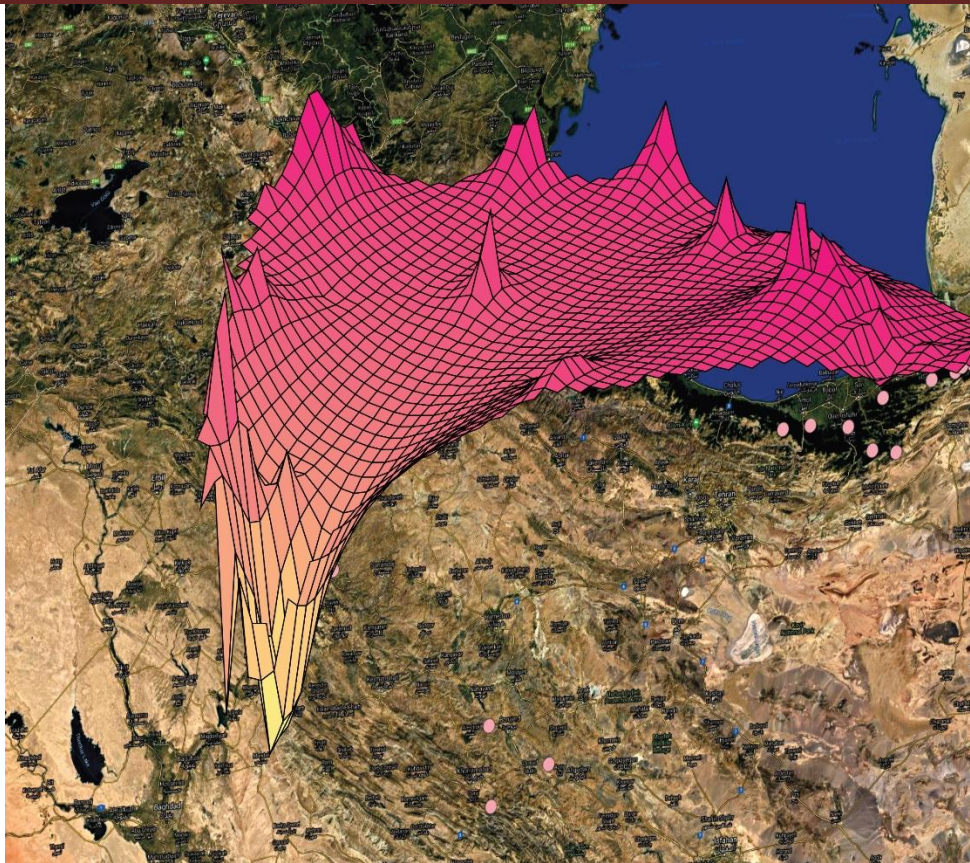
رویشی هیرکانی نیز به دو گروه مجزا تقسیم شدند، گروه اول؛ که از نظر طول جغرافیایی به بخش مرکزی نزدیک‌تر است دارای هم‌پوشانی زیادی با نمونه‌های مرکزی هیرکانی است، ولی گروه دوم از نمونه‌های بخش غربی هیرکانی در گروهی مجزا نسبت به دیگر نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش قرار گرفتند (شکل ۲).



شکل ۲- تجزیه به مولفه‌های اصلی در پنج استان مورد بررسی با استفاده از ۲۶ نشانگر ریزماهوره
Figure 2. Principal component analyses of five province, using 26 microsatellite markers.

سیب قفقازی در این ناحیه به صورت تصادفی باشد (Miller, 2005). در مجموع دو کلنی متفاوت از سیب جنگلی در ناحیه رویشی زاگرس و هیرکانی مشاهده شد. در رویشگاه هیرکانی، همبستگی بالایی بین جمعیت‌های نمونه‌برداری شده مشاهده شد (شکل ۳).

تحلیل همبستگی بین ساختارها را نشان می‌دهد بر اساس این تحلیل، همبستگی بسیار کمی بین رویشگاه‌های لرستان و کردستان از ناحیه رویشی زاگرس وجود دارد و همچنین در بین جمعیت‌های زاگرس، تجمع آلی به صورت قابل توجهی کاهش می‌یابد که این مورد می‌تواند به علت تجمع آل‌های



شکل ۳ - تحلیل Allelic space نمونه‌های سیب قفقازی ایران بر اساس ۲۶ نشانگر مورد بررسی

Fig 3. Allelic space among Iranian population Caucasus's apples base on 26 microsatellites markers

بحث

سیب قفقازی در رویشگاه‌های هیرکانی و زاگرس وجود دارد.

غنای آلی جمعیت‌ها در بررسی‌های ژنتیکی جمعیت‌ها، بیشترین اهمیت را در بین دیگر پارامترهای تنوع ژنتیکی دارد و آگاهی از آن به برنامه‌های حفاظت و استراتژی‌های جدید حفاظت از گونه‌ها کمک خواهد کرد (Coart et al., 2003). کاهش غنای آلی در بین جمعیت‌ها در نهایت منجر به کاهش اندازه جمعیت‌ها و خطر انقراض جمعیت‌ها می‌شود (Nei et al., 1975). میانگین غنای آلی سیب‌های ایران ($66/73 \pm 0/1$) در مقایسه با سیب‌های اروپا و چین ($4/2 \pm 0/6$) کمتر است (Cornille et al., 2013) که نشان‌دهنده کاهش اندازه جمعیت‌های سیب ایران است. هتروزیگوسیتی بالا در پژوهش‌های ژنتیک جمعیت نشان‌دهنده مقدار تنوع

امروزه استفاده از نشانگرهای ژنتیکی برای مدیریت منابع ژنتیکی، شناسایی و حفاظت از آن‌ها گسترش یافته است (Van Treuren et al., 2001). کشور ایران با وجود رویشگاه‌های مختلف هیرکانی و زاگرس، یکی از مراکز تنوع ژنتیکی گونه‌های پهن برگ به‌ویژه سیب قفقازی در دنیا است (Gharghani et al., 2009; Amirchakhmaghi et al., 2018). این بررسی در مقایسه با دیگر بررسی‌هایی که در زمینه ساختار ژنتیکی سیب قفقازی ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره انجام شد (Gharghani et al., 2009; Amirchakhmaghi et al., 2018; Rostami et al., 2019)، از نشانگرهای بیشتری استفاده شد و علاوه بر آن نمونه‌برداری در مقیاس وسیع‌تری انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد، ساختارهای ژنتیکی متمایزی بین

بر تقسیم‌بندی جغرافیایی دارد، در این بررسی جمعیت‌های ایران از نظر شاخص F_{st} (۰/۰۹) مقدار تمایز متوسطی را از خود نشان دادند. اما ساختار ژنتیکی سیب‌های قفقازی در ایران در دو رویشگاه اصلی زاگرس و هیرکانی و در طول جغرافیایی بررسی شد که ساختارهای کاملاً مجزا در آن‌ها مشاهده شد. در دنیا با انجام پژوهش‌های مورفولوژی و ژنتیکی، ساختارهای مختلف را شناسایی کرده و از بذر آن‌ها، برای حفظ گونه‌های ارزشمند وحشی گیاهی و جانوری، در بانک ژن محافظت می‌شود، به همین دلیل جمعیت‌های سیب قفقازی در دو ناحیه رویشی هیرکانی و زاگرس می‌توانند در پشتیبانی و مدیریت بانک ژن در آینده سودمند باشند.

نتیجه‌گیری نهایی

ارزش‌های اکولوژیکی کریدورهای ارتباطی بین جمعیت‌ها از نظر تأثیر بر حیات وحش و حفاظت ژنتیکی آن‌ها ثابت شده است (Rosenberg and Raphael, 1986). علاوه بر آن دورگه‌گیری نیز یکی دیگر از روش‌های محافظت از ژنوم گونه‌های وحشی است (Wiens, 1997). نتایج این تحقیق نشان داد سیب‌های قفقازی ایران واقع در دو ناحیه رویشی هیرکانی و زاگرس دارای دو ساختار ژنتیکی مجزا از همدیگر هستند. با توجه به منفی بودن شاخص درون-آمیزی و رخ دادن رانش ژنتیکی بین جمعیت‌های سیب جنگلی ایران شرایط رویشگاهی برای ادامه حیات این گونه در ایران در حد متوسط است و می‌توان با دورگه‌گیری و ایجاد کریدورهای ارتباطی در جمعیت‌هایی که فاصله جغرافیایی زیادی از یک‌دیگر ندارند به ویژه در زاگرس، شرایط رویشگاهی را به برای حفظ این گونه ارزشمند بهبود بخشید.

بالای آلی در یک جمعیت است (Rousset, 2008). میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده بر اساس نتایج این پژوهش برای سیب‌های جنگلی ایران ۰/۷۴ است که این مقدار برای سیب‌های اروپا و چین ۰/۸ است. مقدار هتروزیگوسیتی نمونه‌های ایران در این پژوهش همانند نتایج Rostami et al. (2019) نسبت به نمونه‌های اروپا و چین کمتر است؛ که این نشان‌دهنده رشد یکنواخت‌تر و تعداد آل‌های کمتر در نمونه‌های ایران است (Zouros et al., 1980). ضریب درون‌آمیزی به پیش‌بینی نسل آینده جمعیت‌ها کمک می‌کند و وضعیت جمعیت‌ها را از نظر استقرار زادآوری مشخص می‌کند (Belkhir et al., 2002). مقادیر بالای FIS نشان‌دهنده هم‌نژادی جمعیت‌های مورد بررسی است و مقادیر منفی FIS بدین معنی است که اجداد گونه‌ها از نظر زادآوری و استقرار آن‌ها موفق نبوده و هر چه موفق‌تر باشند واریانس این عدد کمتر خواهد شد (Belkhir et al., 2002). در این تحقیق مقدار ضریب درون‌آمیزی برای جمعیت‌های ایران -0.02 ± 0.08 بود که این مقدار در مقایسه با جمعیت‌های اروپا و چین 0.06 ± 0.04 و همچنین دیگر پژوهش‌های انجام‌شده بسیار کمتر است (Gharghani et al., 2009). بر اساس نتایج ضریب درون‌آمیزی، استقرار زادآوری در بین جمعیت‌های ایران ضعیف است و می‌توان بیان داشت جمعیت‌های ایران به‌خصوص جمعیت‌های کردستان دارای نژادهای مختلفی هستند. هرگاه مقادیر جریان ژنی کمتر از یک باشد، می‌توان عامل رانش ژنتیکی را به‌عنوان اصلی‌ترین عامل تمایز بین جمعیت‌ها دانست (Henzler et al., 2007). محاسبه میانگین جریان ژنی (Nm) در این بررسی ۰/۶ بود که این مقدار نشان‌دهنده رخ‌دادن رانش ژنتیکی در بین جمعیت‌های سیب قفقازی ایران است. بر اساس نتایج Cornille et al. (2013) گونه سیب قفقازی از نظر ساختار ژنتیکی تطبیق‌پذیری خیلی کمی،

تشکر و قدردانی

از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور که این تحقیق به عنوان بخشی از طرح شماره ۹۷۰۱۵۱۱۳ با عنوان " شارش ژنی بین سیب جنگلی (*Malus*) با عنوان (*orientalis*) Uglitz و سیب خوراکی (*Malus domestica*) Borkh و ساختار ژنتیکی مکانی سیب‌های جنگلی در ایران" مورد حمایت این صندوق انجام شده است، تشکر و قدردانی می‌شود.

We thank Amandine Cornille for her supervision in the project and hosting in her lab, and the Génétique Quantitative et Evolution-Le Moulon lab, the programme Campus France Franco-Iranien « Gundhishapur » 2016-2018, the Institut Diversité Écologie et Évolution du Vivant (IDEEV), and ATIP-Avenir for funding. We also thank Adrien Falce, Olivier Langella and Benoit Johannet for help and support for the bioinformatic analyses on the INRAE-Génétique Quantitative et Evolution-Le Moulon lab cluster, and, Anthony Venon, Carine Remoué and Matthieu Flaque as well as the Plateforme de Génotypage GENTYANE INRA UMR 1095 for their help for genotyping. We are grateful to well as the INRAE MIGALE bioinformatics platform (<http://migale.jouy.inra.fr>) for providing help and support, in particular to Véronique Martin, Eric Montaubon and Valentin Loux. "

References

- Amirchakhmaghi, N.; Yousefzadeh, H.; Hosseinpour, B.; Espahbodi, K.; Aldaghi, M.; Cornille, A., First Insight into Genetic Diversity and Population Structure of the Caucasian Wild Apple (*Malus Orientalis* Uglitzk.) in the Hyrcanian Forest (Iran) and Its Resistance to Apple Scab and Powdery Mildew. *Genetic resources and crop evolution* **2018**, 65 (4), 1255–1268.
- Belkhir, K.; Castric, V.; Bonhomme, F., IDENTIX, a Software to Test for Relatedness in a Population Using Permutation Methods. *Molecular ecology* **2002**, 2 (4), 611–614.
- Coart, E.; Vekemans, X.; Smulders, M. J. M.; Wagner, I.; Van Huylenbroeck, J.; Van Bockstaele, E.; Roldán-Ruiz, I., Genetic Variation in the Endangered Wild Apple (*Malus Sylvestris* (L.) Mill.) in Belgium as Revealed by Amplified Fragment Length Polymorphism and Microsatellite Markers. *Molecular ecology* **2003**, 12 (4), 845–857.
- Cornille, A.; Giraud, T.; Smulders, M. J. M.; Roldán-Ruiz, I.; Gladieux, P., The Domestication and Evolutionary Ecology of Apples. *Trends Genet* **2014**, 30 (2), 57–65.
- Cornille, A.; Gladieux, P.; Giraud, T., Crop-to-Wild Gene Flow and Spatial Genetic Structure in the Closest Wild Relatives of the Cultivated Apple. *Evolutionary Applications* **2013**, 6 (5), 737–748.
- Evenson, R. E.; Gollin, D., Assessing the Impact of the Green Revolution, 1960 to 2000. *Science* **2003**, 300 (5620), 758–762.
- Fischer, A.; Schmidt, M., Wilde Kern-Und Steinobstarten, Ihre Heimat Und Ihre Bedeutung Für Die Entstehung Der Kultursorten Und Die Züchtung. *Der Züchter* **1938**, 10 (6), 157–167.
- Gharaghani, A.; Solhjoo, S.; Oraguzie, N., A Review of Genetic Resources of Pome Fruits in Iran. *Genet. Resour. Crop Evolution* **2016**, 63 (1), 151–172.
- Gharaghani, A.; Zamani, Z.; Talaie, A.; Oraguzie, N. C.; Fatahi, R.; Hajnajari, H.; Wiedow, C.; Gardiner, S. E., Genetic Identity and Relationships of Iranian Apple (*Malus* × *Domestica* Borkh.) Cultivars and Landraces, Wild *Malus* Species and Representative Old Apple Cultivars Based on Simple Sequence Repeat (SSR) Marker Analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution* **2009**, 56 (6), 829–842.
- Henzler-Wildman, K. A.; Lei, M.; Thai, V.; Kerns, S. J.; Karplus, M.; Kern, D. A., Hierarchy of Timescales in Protein Dynamics Is Linked to Enzyme Catalysis. *Nature* **2007**, 450 (7171), 913–916.
- Hubisz, M. J.; Falush, D.; Stephens, M.; Pritchard, J. K., Inferring Weak Population Structure with the Assistance of Sample Group Information. *Molecular ecology resources* **2009**, 9 (5), 1322–1332.
- Li, Y. L.; Liu, J. X., StructureSelector: A Web-Based Software to Select and Visualize the Optimal Number of Clusters Using Multiple Methods. *Molecular ecology resources* **2018**, 18 (1), 176–177.
- Miller, M. P., Alleles In Space (AIS): Computer Software for the Joint Analysis of Interindividual Spatial and Genetic

- Information. *Journal of Heredity* **2005**, *96* (6), 722–724.
- Mittermeier, R. A.; Gil, P.; Hoffman, M.; Pilgrim, J.; Brooks, T.; Mittermeier, C. G., Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. *México: CEMEX* **1999**.
- Nei, M.; Maruyama, T.; Chakraborty, R., The Bottleneck Effect and Genetic Variability in Populations. *Evolution* **1975**, 1–10.
- Patocchi, A.; Frei, A.; Frey, J. E.; Kellerhals, M., Towards Improvement of Marker Assisted Selection of Apple Scab Resistant Cultivars: Venturia Inaequalis Virulence Surveys and Standardization of Molecular Marker Alleles Associated with Resistance Genes. *Molecular Breeding* **2009**, *24* (4), 337–347.
- Piry, S.; Luikart, G.; Cornuet, J.-M., Computer Note. BOTTLENECK: A Computer Program for Detecting Recent Reductions in the Effective Size Using Allele Frequency Data. *Journal of Heredity* **1999**, *90* (4), 502–503.
- Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P., Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* **2000**, *155* (2), 945–959.
- Rosenberg, K. V.; Raphael, M. G., Effects of Forest Fragmentation on Vertebrates in Douglas-Fir Forests **1986**.
- Rostami, R.; Seyedi, N.; Yousefzadeh, H., Genetic Diversity of Wild Apple (*Malus Orientalis* Uglitz.) in Hyrcanian Forests of Iran by SSR Markers. *Forest Research and Development* **2019**, *5* (2), 169–172 (In Persian)
- Rousset, F. Genepop'007: A Complete Re-implementation of the Genepop Software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources* **2008**, *8* (1), 103–106.
- Szpiech, Z. A.; Jakobsson, M.; Rosenberg, N. A., ADZE: A Rarefaction Approach for Counting Alleles Private to Combinations of Populations. *Bioinformatics* **2008**, *24* (21), 2498–2504.
- Van Treuren, R.; Van Soest, L. J. M.; Van Hintum, T. J. L., Marker-Assisted Rationalisation of Genetic Resource Collections: A Case Study in Flax Using AFLPs. *Theoretical and Applied Genetics* **2001**, *103* (1), 144–152.
- Wiens, J. A., Metapopulation Dynamics and Landscape Ecology. In *Metapopulation biology* **1997**; pp 43–62.
- Wiens, J. J., The Niche, Biogeography and Species Interactions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **2011**, *366* (1576), 2336–2350.
- Khodadoost, A.; Yousefzadeh, H.; Amirchakhmaghi, N.; Abdollahi, H.; Hoseinzadeh, A., Genetic Diversity of *Malus Orientalis* in Hyrcanian Forest Using ISSR-PCR Markers. *Journal of Cellular and Molecular Research* **2017**, *29* (4), 359–369 (In Persian).
- Zouros, E.; Singh, S. M.; Miles, H. E., Growth Rate in Oysters: An Overdominant Phenotype and Its Possible Explanations. *Evolution* **1980**, 856–867.

Genetic diversity and structure of Iranian wild apple (*Malus orientalis* Uglitzk) distributed in Iran using SSR markers

H. Bina¹, H. Yousefzadeh^{*2}, B. Hosseinpour³ and H. Abdollahi⁴

1- Ph.D. student of Forestry, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Tehran, I. R. Iran. (hamid.bina67@gmail.com)

2- Associate Professor, Department of Environment Science, Faculty of Natural sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I. R. Iran. (h.yousefzadeh@modares.ac.ir)

3- Assistant Professor, Department of Agriculture, Institute of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, I. R. Iran. (bhosseinpour@gmail.com)

4- Assistant Professor, Temperate Fruits Research Centre, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, I. R. Iran. (habdollahi@yahoo.it)

Received: 07.12.2020 Accepted: 29.03.2021

Abstract

Caucasian apple (*Malus orientalis* Uglitzk) is one of the forest-garden species of Iran that is distributed in Hyrcanian and Zagros vegetation areas in Iran. In this study, the diversity and genetic structure of Caucasian apples were investigated using 26 microsatellite markers. The results showed that the observed heterozygosity was between 0.46 - 0.83 and the allelic richness was between 1.54 - 1.84. In more than 80% of habitats, heterozygosity was expected to be within the expected range. Our finding suggests that between Iranian populations wild apples have not experienced a genetic bottleneck in the recent result. The range of inoculation coefficient for Caucasian apples in Hyrcanian forest was between -0.84 and 0.81 and for Zagros forest was between -0.2 and 0.81. The mean gene flow is 0.24 and 0.69 for Hyrcanian forest and Zagros forest, respectively. Based on Hardy-Weinberg equilibrium only populations from Lorestan province and Dorak region from Golestan province were deviated. The study of the results of genetic structure also indicates the formation of three completely different structures for Caucasian apple populations in Iran. based on the analysis of principal components analysis, Hyrcanian and Zagros regions showed a completely different structure from each other.

Keywords: Bottleneck, Conservation genetics, Gene flow, Wild apple.

* Corresponding author

Tel: +989114420397