



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "حفاظت زیست‌بوم گیاهان"

دوره هشتم، شماره شانزدهم

<http://pec.gonbad.ac.ir>

تنوع ژنتیکی توده‌های طبیعی و دست کاشت گونه *Avicennia marina* در سواحل شمالی

خلیج فارس

محمدحسین قراچه^۱، محمدعلی سالاری علی‌آبادی^{۲*}، سید صدرالدین قائم‌مقامی^۳، سید احمد

قاسمی^۴

^۱ دانشجوی دکتری زیست‌شناسی دریا، دانشکده‌ی علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر

^۲ دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده‌ی علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر

^۳ استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده‌ی علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر

^۴ استادیار، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۸

چکیده

یکی از مهم‌ترین کانون‌های توده‌های دست کاشت گونه ارزشمند حرا در سواحل ایرانی خلیج فارس و دریای عمان، سواحل بندر امام خمینی در استان خوزستان می‌باشد، لذا حفاظت از این اکوسیستم‌های ارزشمند باید موردعنايت بیشتر قرار گیرد. هدف مطالعه حاضر، بررسی تنوع ژنتیکی جنگل‌های دست کاشت گونه *Avicennia marina* و مقایسه آن با رویشگاه‌های طبیعی آن با استفاده از روش ISSR بود. بدین منظور تعداد ۷۵ پایه درختی از سه جمعیت، با رعایت حداقل فاصله ۳۰ تا ۵۰ متر از یکدیگر جمع‌آوری و با استفاده از ۱۵ نشانگر ISSR موردبررسی قرار گرفتند. در همین راستا ۱۴ آغازگر، ۲۸۴ باند را در ۷۵ نمونه گیاهی از ۳ جمعیت تولید کردند. نتایج، تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی را در سطح گونه نشان داد ($SI = 0.308$, $He = 0.199$, $P = 69/48$). تنوع ژنتیکی در جمعیت دست کاشت ($SI = 0.179$, $P = 55/99$) و قشم ($SI = 0.272$, $P = 67/25$) کمتر از جمعیت‌های طبیعی خلیج نایبند ($SI = 0.364$, $He = 0.232$, $P = 85/21$) و قشم ($SI = 0.179$, $P = 67/25$) بود. آنالیز واریانس مولکولی AMOVA نشان داد که بیشترین تغییرات ژنتیکی مربوط به تغییرات درون جمعیتی و به میزان ۸۲٪ بود و تنها ۱۸٪ تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها مشاهده گردید که نشان می‌دهد تنوع ژنتیکی جمعیت دست کاشت نسبتاً خوب حفظ شده است. دندروگرام بر اساس فواصل ژنتیکی، دو خوشه عمده را نشان داد که جمعیت‌های طبیعی و دست کاشت را از هم جدا کرد. به دلیل تفاوت ژنتیکی معنی‌دار جمعیت دست کاشت با جمعیت‌های طبیعی، افزایش تنوع ژنتیکی آن‌ها از طریق کاشت دوره‌ای ممتد بذور و نهال‌های حاصل از جمعیت‌های طبیعی با تنوع بالا، ضروری می‌باشد.

* نویسنده مسئول: salari1346@yahoo.com

واژه‌های کلیدی: *Avicennia marina*، تنوع ژنتیکی، JSSR، مانگرو

مقدمه

مانگروها نقش مهمی در اکوسیستم سیاره ما ایفا می‌کنند. جنگل‌های مانگرو به‌طور گسترده‌ای در نواحی حاره و تحت حاره پراکنش داشته و ناحیه بین جذر و مدی سواحل گلی را اشغال کرده‌اند (Schaeffer-Novelli et al., 2002). وسعت جهانی جنگل‌های مانگرو ۲۱ میلیون هکتار گزارش شده است. رویش‌های حرا در ایران در جنوب کشور و در سواحل خلیج فارس و دریای عمان، حدفاصل مدارهای ۲۵ درجه و ۱۱ دقیقه تا ۲۷ درجه و ۵۲ دقیقه عرض شمالی گسترش یافته‌اند که سواحل سه استان سیستان و بلوچستان، هرمزگان و بوشهر را شامل می‌شود (صفیاری، ۱۳۹۶). از مناطق واجد حرا در ایران چهار منطقه تحت عنوان تالاب بین‌المللی و یک منطقه با عنوان پارک ملی ساحلی دریایی و هشت منطقه تحت عنوان منطقه حفاظت‌شده و یک منطقه به‌عنوان ذخیره‌گاه زیست‌کره تحت مدیریت سازمان حفاظت محیط‌زیست قرار گرفته‌اند (قربانزاده زعفرانی، ۱۳۹۳). رویشگاه‌های حرای ایران، حد نهایی پراکنش مانگروها در ناحیه آسیای جنوب غربی را تشکیل می‌دهند. این جنگل‌ها عمدتاً از گونه حرا *Avicennia marina* تشکیل شده‌اند که در برخی مناطق نظیر سیریک و جاسک در ترکیب با گونه چنل *Rhizophora mucronata* وجود دارند (صفیاری، ۱۳۹۶).

علی‌رغم اهمیت اکولوژیکی فراوان، جنگل‌های مانگرو در اثر فعالیت‌های مخرب انسانی از قبیل تبدیل رویشگاه‌های مانگرو به مزارع پرورش آبزیان، اکو توریسم، توسعه شهری و استفاده بیش‌از‌حد، در سراسر دنیا در حال ناپدید شدن هستند (Alongi, 2002; Giri et al., 2008). یکی از مهم‌ترین عوامل تهدیدکننده اکوسیستم جنگل‌های مانگرو تکه‌تکه شدن زیستگاه می‌باشد که خود سبب جدایی جمعیت‌ها، کاهش جریان ژن و افزایش درون آمیزی می‌شود که در نتیجه همه این عوامل تنوع ژنتیکی کاهش یافته و ممکن است در بلندمدت تبعات تکاملی به همراه داشته باشد (Friess et al., 2012; Young et al., 1996).

اگرچه فعالیت‌های انسانی در عرصه‌های طبیعی معمولاً نقش نابودگری داشته، اما برخی فعالیت‌ها در جهت احیا و بازسازی ذخایر قدیمی جنگل‌های مانگرو و ایجاد عرصه‌های جدید از طریق جنگل‌کاری صورت گرفته است. در همین راستا در سالیان اخیر مطالعاتی در جهت احیا و بازسازی جنگل‌های مانگروی کشور صورت گرفته است (قربانزاده زعفرانی، ۱۳۹۲). یکی از طرح‌های مهم اجرا شده در این زمینه در استان خوزستان و در سواحل شهر بندری بندر امام خمینی می‌باشد. از سال ۱۳۷۵ به‌منظور توسعه و گسترش فضای سبز در منطقه ساحلی بندر امام خمینی، کاشت حرا به‌صورت دست کاشت آغاز شده است و تا پایان سال ۱۳۸۸ حدود ۷ میلیون اصله درخت حرا در مناطق گسترده‌ای از سواحل

این منطقه کاشته شده است (اداره کل حفاظت محیط‌زیست استان خوزستان، ۱۳۹۰). هرچند بعضاً در طرح‌های جنگلداری، حفظ تنوع ژنتیکی توده‌های دست کاشت در خلال فرایند جنگل‌کاری مدنظر قرار می‌گیرد، اما بررسی و ارزیابی این توده‌های جدید از نظر ژنتیکی، در گذر زمان ضروری می‌باشد. تنوع ژنتیکی در بقای بلندمدت گونه‌ها ضروری می‌باشد. تنوع ژنتیکی بالاتر یعنی توانایی پاسخگویی بهتر به تغییرات شرایط محیطی (Ge and Sun, 1999). به‌منظور پیاده‌سازی بهتر برنامه‌های حفاظتی، آگاهی از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی مهم می‌باشد (Li and Chen, 2009). در مورد طرح‌های حفاظتی جنگل‌های دست کاشت نیز بررسی تنوع ژنتیکی در گذر زمان و به‌منظور اتخاذ سیاست‌های مدیریتی بلندمدت امری ضروری می‌باشد. روش ISSR ابزاری مفید به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشد. مطالعات متعددی از این روش به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی جنس‌ها و گونه‌های مختلف مانگرو از قبیل *Ceriops* (Huang et al., 2008)، *Sonneratia* (Li and Chen, 2008)، *Heritiera littoralis* (Jian et al., 2004) و *Lumnitzera racemosa* Willd. (Su et al., 2006) بهره برده‌اند.

هدف از مطالعه حاضر استفاده از روش ISSR به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی جنگل‌های دست کاشت حرا در ناحیه بندر امام خمینی و مقایسه آن با جنگل‌های طبیعی ناحیه خلیج نایبند و قشم می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر می‌تواند برای برنامه‌های حفظ و توسعه این‌گونه ارزشمند مورد توجه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

ناحیه مورد مطالعه

جنگل حرای دست کاشت مورد مطالعه در منطقه ساحلی بندر امام خمینی و جمعیت‌های طبیعی مورد مطالعه در ناحیه خلیج نایبند و قشم واقع گردیده‌اند (جدول ۱). تعداد ۷۵ پایه درختی از سه جمعیت *A. marina* به‌صورت کاملاً تصادفی جمع‌آوری گردید. فاصله هر یک از افراد نمونه‌برداری شده از فرد مجاور حداقل ۳۰-۵۰ متر بود (Dasgupta et al., 2018). نمونه‌ها در کنار سیلیکاژل به آزمایشگاه منتقل و پس از خشک شدن در آون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به‌منظور استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱- جمعیت‌های *Avicennia marina* مطالعه شده در این تحقیق

کد جمعیت	مکان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	نوع جمعیت	تعداد نمونه
MAH	بندر امام خمینی- خوزستان	49° 8' E	30° 33' N	دست کاشت	۳۰
ASL	خلیج نایبند- بوشهر	52° 68' E	27° 28' N	طبیعی	۲۱
QSM	جزیره قشم- هرمزگان	56° 5' E	26° 55' N	طبیعی	۲۴

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز: DNA با استفاده از روش CTAB استخراج گردید. بدین منظور ۴۰-۵۰ میلی‌گرم بافت خشک در میکروتیوب ۲ میلی‌لیتر ریخته شد و محلول CTAB ۲٪ و SDS ۲۰٪ به آن اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترمومیکسر انکوبه شد. پس از انکوباسیون، ۶۰۰ میکرولیتر محلول استات سدیم (۷/۵ مولار، pH 8) به میکروتیوب اضافه و سانتیفریژ گردید. سپس DNA با استفاده از ۲-پروپانول رسوب داده و با ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ شستشو شد. پلت تشکیل شده در دمای اتاق خشک و با میزان مناسب آب مقطر محلول گردید. پس از استخراج، کیفیت و کمیت DNA به ترتیب با استفاده از آگاروز ۱٪ و بایوفتومتر تعیین گردید. ۱۵ آغازگر ISSR (جدول ۲) در ابتدا غربال و تعداد ۱۴ آغازگر که قطعات تکرارپذیر و مجزا و واضح تولید کرده بودند انتخاب و به‌منظور انجام آزمایش‌های مورد استفاده واقع گردیدند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم ۱۲/۵ میکرولیتر، شامل ۱/۵ میکرولیتر PCR buffer، ۱۰X، ۰/۶ میکرولیتر DNA (۲۰ نانوگرم در میکرولیتر)، ۰/۴ میکرولیتر کلرید منیزیم (۲ میلی مولار)، ۱/۲ میکرولیتر آغازگر (۰/۴ میکرومولار)، ۰/۴ میکرولیتر dNTP (۰/۱ میلی مولار)، ۰/۱۷ میکرولیتر آنزیم DNATaq (۱/۳ واحد) و ۸/۳ میکرولیتر آب مقطر دییونیزه انجام شد. تکثیر در دستگاه ترموسایکلر شامل یک مرحله واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ چرخه مشتمل بر واسرشته سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و توسعه رشته جدید در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت توسعه نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، صورت گرفت. محصولات تکثیرشده با استفاده از ژل اکریل آمید ۶٪ و با استفاده از رنگ‌آمیزی نیترات نقره به‌منظور مشاهده باندهای تولیدشده تفکیک گردید.

جدول ۲- توالی، دمای اتصال و تعداد باندهای تکثیرشده آغازگرهای ISSR مورد استفاده در این مطالعه

کد	توالی	دمای اتصال	تعداد باند
Primer 1	5' TGTACACACACACAC 3'	۵۰/۷	۱۶
Primer 2	5' TATTGTGTGTGTGTG 3'	۴۸/۳	۱۷
Primer 3	5' CACTGTGTGTGTGTG 3'	۵۲/۳	۲۸
UBC807	5' AGAGAGAGAGAGAGT 3'	۵۰	۲۹
UBC808	5' AGAGAGAGAGAGAGC 3'	۵۲	۲۱
UBC809	5' ATATATATATATATT 3'	۳۱	۰
UBC810	5' GAGAGAGAGAGAGAT 3'	۵۰	۲۷
UBC811	5' GAGAGAGAGAGAGAC 3'	۵۲	۲۹
UBC813	5' CTCTCTCTCTCTCTT 3'	۵۰	۱۳
UBC814	5' CTCTCTCTCTCTCTA 3'	۵۰	۱۲
UBC815	5' CTCTCTCTCTCTCTG 3'	۵۲	۱۷
UBC817	5' CACACACACACACAA 3'	۵۰	۲۰
UBC820	5' GTGTGTGTGTGTGTT 3'	۵۰	۱۸
UBC821	5' TCTCTCTCTCTCTCA 3'	۵۰	۱۹
UBC823	5' TCTCTCTCTCTCTCC 3'	۵۲	۱۸

آنالیز داده‌ها

باندهای ISSR، برای هر آغازگر معین و تحت عنوان حضور (۱) یا عدم حضور (۰) برای هر نمونه امتیازدهی شد. ماتریس داده باینری با استفاده از نرم‌افزار POPGENE version 1.31 به‌منظور بررسی اینکه جمعیت‌ها در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارند آنالیز گردید. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها شاخص‌های زیر مورد بررسی قرار گرفتند: درصد لوکوس‌های چند ریخت (P)، هتروزایگوسیتی مورد انتظار (He)(Nei, 1973)، شاخص تنوع شانون (SI). شاخص‌های تنوع ژنتیکی (SI و He ، P) در سطح گونه نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. اندازه‌گیری فاصله ژنتیکی و هویت ژنتیکی بین جمعیت‌ها (Nei, 1978) با استفاده از POPGENE version 1.31 انجام شد و داده‌های فاصله ژنتیکی، به‌منظور رسم دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار statistiXL version 1.1، استفاده شد. آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)، به‌منظور محاسبه اجزای واریانس و سطوح معنی‌داری آن‌ها در سطوح درون و میان جمعیتی، با استفاده از GeneAIEX version 6.1 محاسبه گردید (Peakall and Smouse, 2006).

نتایج

تعداد کل ۲۸۴ باند تکرارپذیر در ۷۵ پایه *A. marina* از سه جمعیت با استفاده از ۱۴ آغازگر تشخیص داده شد. تعداد باندهای تکثیرشده در هر آغازگر از ۱۲ تا ۲۹ و با تعداد متوسط ۲۰/۲ باند در هر آغازگر متغیر بود (جدول ۲). اندازه قطعات تکثیرشده از ۴۰۰ تا ۲۰۰۰ جفت باز متغیر بود. از ۲۸۴ باند تشخیص داده شده ۲۷۲ باند (۹۵/۷۷٪) چندریخت بودند.

تنوع ژنتیکی: در سطح گونه‌ای، درصد لوکوس‌های چندریخت (*P*)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (*He*) و شاخص تنوع شانون (*SI*) به ترتیب برابر ۶۹/۴۸٪، ۰/۱۹۹ و ۰/۳۰۸ بود (جدول ۳). برای همه جمعیت‌ها، مقادیر *P*، *He* و *SI* به ترتیب از ۵۵/۹۹ تا ۸۵/۲۱ درصد، ۰/۱۷۹ تا ۰/۲۳۲ و ۰/۲۷۲ تا ۰/۳۶۴ متغیر بود (جدول ۳). مقادیر *P*، *He* و *SI* جمعیت‌های طبیعی خلیج نایبند به ترتیب برابر ۸۵/۲۱٪، ۰/۳۶۴/۲۳۲ و قشم ۶۷/۲۵٪، ۰/۱۸۴ و ۰/۲۸۸ بود و این مقادیر برای جمعیت دست کاشت بندر امام خمینی به ترتیب برابر ۵۵/۹۹٪، ۰/۱۷۹ و ۰/۲۷۲ بود. جمعیت‌های طبیعی خلیج نایبند و قشم تنوع ژنتیکی بالاتری را بر اساس هر سه شاخص تنوع ژنتیکی نشان دادند.

جدول ۳- شاخص‌های تنوع ژنتیکی در ایستگاه‌های مختلف

ایستگاه	<i>P</i>	<i>He</i>	<i>SI</i>
بندر امام خمینی	۵۵/۹۹	۰/۱۷۹	۰/۲۷۲
خلیج نایبند	۸۵/۲۱	۰/۲۳۲	۰/۳۶۴
قشم	۶۷/۲۵	۰/۱۸۴	۰/۲۸۸
کل	۶۹/۴۸	۰/۱۹۹	۰/۳۰۸

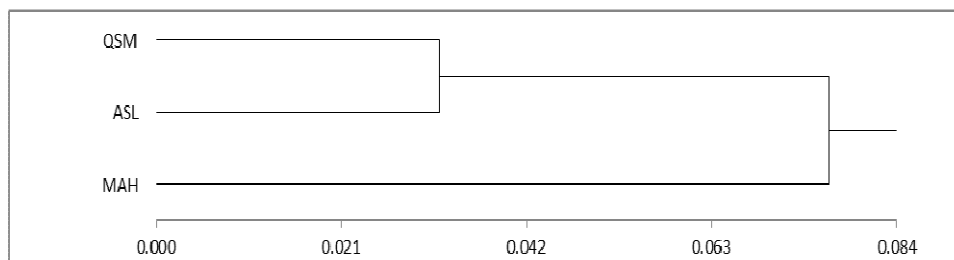
SI: شاخص تنوع شانون؛ *He*: هتروزیگوسیتی مورد انتظار؛ *P*: درصد لوکوس‌های چندریخت

فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های طبیعی خلیج نایبند و قشم و جمعیت دست کاشت بندر امام خمینی به ترتیب برابر ۰/۰۷۱۵ و ۰/۰۷۵۹ بود (جدول ۴).

جدول ۴- هویت ژنتیکی و فاصله ژنتیکی (Nei's (1978) میان جمعیت‌های مورد مطالعه

جمعیت	بندر امام خمینی	خلیج نایبند	قشم
بندر امام خمینی	xxxx	۰/۹۳۱	۰/۹۲۶
خلیج نایبند	۰/۰۷۱	xxxx	۰/۹۶۸
قشم	۰/۰۷۵	۰/۰۳۲	xxxx

آنالیز خوشه‌ای: بر اساس فاصله ژنتیکی Nei (1978)، دندروگرام دو جمعیت با استفاده از آنالیز خوشه‌ای group average ترسیم شد. دو جمعیت به دو گروه اصلی تقسیم شدند: جمعیت طبیعی و جمعیت دست کاشت (شکل ۱).



شکل ۱- دندروگرام تجزیه و تحلیل خوشه‌ای بر اساس فاصله ژنتیکی Nei's (۱۹۷۸) برای جفت جمعیت‌ها (QSM) قسم؛ ASL خلیج نایبند؛ MAH ماهشهر)

AMOVA: آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که تنها ۱۸٪ کل تمایزات در میان جمعیت‌ها دیده می‌شود، حال آنکه بیشتر اختلاف‌ها (۸۲٪) درون جمعیت بود (جدول ۵). آنالیز تفاوت‌های جمعیتی دوبه‌دو (PHI_{PT}) ۰/۱۷۹ بود و نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی معنی‌دار بین دو جمعیت بود ($P < 0.001$) (جدول ۵).

جدول ۵- جدول آنالیز واریانس

PHI _{PT}	P-value	% of total variance	Est. Var	MSD	SSD	df	منبع
		٪۱۸	۱۴/۰۸۷	۴۱۲/۸۴۶	۸۲۵/۶۹۱	۲	میان جمعیتی
		٪۸۲	۶۴/۶۰۴	۶۴/۶۰۴	۴۶۵۱/۴۹۵	۷۲	درون جمعیتی
۰/۱۷۹	۰/۰۰۱	۱۰۰	۷۸/۶۹۲		۵۴۷۷/۱۸۷	۷۴	کل

Df: درجه آزادی؛ SS: مجموع مجذور انحراف‌ها؛ MS: میانگین مجذور انحراف‌ها؛ Est. Var: انحراف برآورد شده؛ PHI_{PT}: تمایز جمعیت‌ها

بحث و نتیجه‌گیری

سطوح بالای چندریختی تشخیص داده‌شده (۶۹/۴۸٪) آنالیزهای ISSR را به ابزاری قدرتمند به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی در گونه *A. marina* بدل می‌کند. تاکنون مطالعات متعددی از

نشانه‌های ISSR به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف مانگرو بهره برده‌اند (جدول ۶). چنین به نظر می‌رسد که گونه‌های متفاوت مانگروها درجات متفاوتی از تنوع را نشان می‌دهند که این چندریختی به شرایط بستر و سازگاری گونه‌ها بستگی دارد (Lakshmi et al., 1997).

جدول ۶- مقایسه مطالعات تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف مانگرو با استفاده از نشانه‌های ISSR

مؤلف/مؤلفان	SI	He	P (%)	گونه
Ge and Sun, 1999		۰/۰۳۹	۱۶	<i>Aegiceras corniculatum</i>
Tan et al., 2005	۰/۳۷۹	۰/۲۵۳	۷۲	<i>Ceriops decandra</i>
Ge and Sun, 2001		۰/۰۱۶	۹	<i>C. tagal</i>
Jian et al., 2004	۰/۳۶۵	۰/۲۳۶	۹۳	<i>Heritiera littoralis</i>
Su et al., 2006	۰/۴۰۳	۰/۲۶۰	۸۷	<i>Lumnitzera racemosa</i>
Su et al., 2007	۰/۳۵۷	۰/۲۴۰	۷۵	<i>L. littorea</i>
Li and Chen, 2009	۰/۳۵۰	۰/۲۲۴	۸۱	<i>Sonneratia paracaseolaris</i>
Caynap and Kondo, 2011	۰/۲۷۹	۰/۱۷۳	۷۶	<i>Kandelia obovata</i>

P: درصد لوکوس‌های چندریخت، He: میانگین هتروزایگوسیتی مورد انتظار، SI: شاخص شانون

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی نواحی خلیج نایبند و قشم بالاتر از جمعیت دست کاشت بندر امام خمینی می‌باشد. هوانگ و همکاران (Huang et al., 2008) بیان کردند که محدوده (دامنه) جغرافیایی، سیستم تولیدمثلی و الگوی پراکنش، در میان چندین عامل مؤثر بر تنوع ژنتیکی یک‌گونه قرار دارند. جدایی جغرافیایی و واگرایی زیستگاه (habitat divergence) می‌توانند بر حفظ تفاوت‌های ژنتیکی در گونه‌های مانگروها تأثیر بگذارند (Su et al., 2006). اطلاعات عملی در مورد گیاهان به‌طور کلی تأیید می‌کند که تکه‌تکه شدن زیستگاه همراه با کاهش اندازه جمعیت می‌باشد که با کاهش تنوع ژنتیکی همراه شده است (Ledig, 1992; Young et al., 1996). مشاهده گردیده است که جمعیت‌های *A. marina* تحت فشار ناشی از مصرف دائم شاخ و برگ به‌عنوان علوفه و چرا، همچنین آلودگی محیطی، سطوح پایینی از چندریختی را از خود نشان داده‌اند (Parani et al., 1997). جنگل‌های مانگروی خلیج نایبند در مجاورت بهترین زیستگاه‌های مانگروی خلیج فارس و دریای عمان واقع شده‌اند، بنابراین چندان دور از انتظار نیست که این جمعیت جریان ژن و مبادلات ژنی بالایی با همسایگان داشته باشد (Kahrood et al., 2008). با توجه به‌واقع شدن جنگل‌های مانگروی بردخون و دیر در فاصله کمی از جنگل‌های مانگروی خلیج نایبند، شاید بتوان دلیل تنوع ژنتیکی بالاتر این منطقه در قیاس با سایر مناطق را میزان تبادل ژنی بالاتر رویشگاه خلیج نایبند عنوان کرد.

محدوده (مکان) جغرافیایی جمعیت‌های دست کاشت در ناحیه بندر امام خمینی از محدوده (مکان) جغرافیایی جمعیت‌های طبیعی در نواحی خلیج نایبند و قشم متفاوت می‌باشد. دلیل تنوع ژنتیکی پایین جمعیت‌های دست کاشت می‌تواند به تأثیرات تجمعی وقایع بنیان‌گذاری، اندازه جمعیت کوچک، جدایی جغرافیایی و در نتیجه فقدان جمعیت‌های همسایه به‌عنوان منبع تنوع بیشتر، نسبت داده شود (Kaynap and Kondo, 2011). جغرافی نیز بر تفاوت‌های جمعیتی تأثیرگذار می‌باشد. به‌طور عمومی، میزان بالاتر جدایی یک جمعیت منجر به تفاوت بالاتر می‌گردد (Albrecht et al., 2013). فواصل جغرافیایی با جریان ژن و پتانسیل پراکنش پروپاگول‌های گونه‌های مانگرو با گسترش بالا مرتبط است (Duke et al., 1998) و بر محدودیت‌های تفاوت ژنتیکی *A. marina* تأثیر می‌گذارد (Manurung et al., 2017). همان‌گونه که در مطالعه حاضر مشاهده می‌گردد به دلیل اینکه بذرها مورد استفاده به‌منظور ایجاد جنگل‌های دست کاشت نماینده بخش کوچکی از جمعیت‌های مادری می‌باشند، پایین بودن تنوع ژنتیکی در قیاس با جمعیت‌های مادری طبیعی می‌باشد. چنین به نظر می‌رسد که جمعیت‌های دست کاشت ناحیه بندر امام خمینی شرایط دمایی سخت‌تری را تجربه می‌کنند که ممکن است منجر به واگرایی ژنتیکی این جمعیت در آینده شود. دندروگرام ترسیم‌شده بر اساس فاصله ژنتیکی دو خوشه عمده را نشان داد که جمعیت‌های دست کاشت و طبیعی را از هم جدا می‌کرد.

تنوع ژنتیکی *A. marina* مشخص شده توسط AMOVA درون جمعیت‌ها (۸۲٪) بالاتر از میان جمعیت‌ها (۱۸٪) بود. هوانگ و همکاران (Huang et al., 1994) چنین بیان کردند که تنوع ژنتیکی پایین درون جمعیت‌های مانگروها، نتیجه اکولوژیکی همگنی زیستگاهی بالا و استرس فیزیولوژیکی ناشی از شرایط رشد ناپایدار می‌باشد. بر این اساس نتایج مطالعه حاضر می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که تنوع ژنتیکی جمعیت دست کاشت ناحیه بندر امام خمینی نسبتاً محافظت‌شده بوده است. به‌هرحال، نتایج آنالیز تفاوت‌های جمعیتی دوبه‌دو (PHI_{PT}) نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی شدیداً معنی‌دار بین جمعیت‌های طبیعی و جمعیت دست کاشت بود ($P < 0.01$) (جدول ۷). در گذر زمان، تنوع ژنتیکی جمعیت دست کاشت بندر امام ممکن است یک روند کاهشی را نشان دهد.

جدول ۷- نتایج تفاوت‌های جمعیتی جفت جمعیت‌ها (PHI_{PT}) (قسمت تحتانی) و معنی‌داری آن‌ها (قسمت فوقانی)

جمعیت	بندر امام خمینی	خلیج نایبند	قشم
بندر امام خمینی	xxxx	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
خلیج نایبند	۰/۱۷۶	xxxx	۰/۰۰۱
قشم	۰/۱۸۲	۰/۱۷۷	xxxx

به‌عنوان یک راهبرد حفاظتی در جنگل‌کاری حرا، تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های اهداکننده و شباهت ژنتیکی آن‌ها با افراد موجود در محل جنگل‌کاری باید در هنگام انتخاب جمعیت‌ها به‌عنوان منبع بذر و نهال موردتوجه واقع شود (Hamrick and Godt, 1996). توجه به این نکته می‌تواند احتمال بقای جنگل‌های دست کاشت را افزایش دهد. به‌عنوان یک توصیه، تنوع ژنتیکی گونه‌های رشد یافته در جنگل‌های دست کاشت بندر امام می‌تواند به‌وسیله کاشت دوره‌ای ممتد مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای از نهال‌ها از جمعیت‌های طبیعی با تنوع بالا، افزایش یابد. پایش و ارزیابی ممتد جنگل‌های دست کاشت مانگرو به‌منظور آگاهی از نتایج، اصلاح یا بهبود شرایط موجود و کمک به بهبود و بهینه‌سازی راهبردهای حفاظتی مانگروها، به‌طور خاص از نظر حفظ تنوع ژنتیکی بالا، ضروری می‌باشد.

با توجه به نتایج این تحقیق نشانگرهای ISSR در گونه *A. marina* به‌خوبی تکثیر شدند و سطوح نسبتاً بالایی از چندشکلی را نشان دادند. دندروگرام ترسیم‌شده بر اساس فاصله ژنتیکی دو خوشه عمده را نشان داد که جمعیت‌های دست کاشت و طبیعی را از هم جدا می‌کرد. همچنین، مناطق واجد رویشگاه‌های طبیعی دارای تنوع ژنتیکی بالاتری در قیاس با جنگل‌های دست کاشت بودند، هرچند تنوع ژنتیکی جنگل‌های دست کاشت نیز نسبتاً خوب حفظ‌شده است. همان‌گونه که پیش‌تر نیز به آن اشاره گردید می‌توان با کاشت دوره‌ای بذور و نهال‌های جدید تنوع ژنتیکی موجود را حفظ و به ثبات هر چه بیشتر این جنگل‌ها در آینده کمک کرد.

در انتها باید به این نکته اشاره نمود که با نمونه‌گیری از جمعیت‌های بیشتر، خصوصاً نواحی جنگل‌کاری شده و نمونه‌برداری گسترده‌تر، می‌توان اطلاعات بیشتری را در جهت نتیجه‌گیری در مورد سطوح تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌های طبیعی و دست کاشت گونه *A. marina* فراهم آورد.

منابع

- اداره کل حفاظت محیط‌زیست استان خوزستان. ۱۳۹۰. طرح مطالعه و بررسی کاشت نهال در سواحل و دلتای رودخانه بهمنشیر. ۱۵۲ ص.
- قربانزاده زعفرانی، س. ق.، عزیزی، ن.، شهلاپور، ش.، سرابی، ف. ۱۳۹۳. راهنمای صحرایی احیا و بازسازی اکولوژیک جنگل‌های مانگرو. نشر شروع، ۹۶ ص.
- صفیاری، ش. ۱۳۹۶. جنگل‌های مانگرو در ایران. نشریه طبیعت ایران، دوره ۲، شماره ۲، صفحه ۴۹-۵۷.
- Albrecht, M., Kneeland, K., Lindroth, E., Foster, J. E. 2013. Genetic diversity and relatedness of the mangrove *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae) using amplified fragment polymorphism (AFLP) among locations in Florida, USA and the Caribbean. *Journal of coastal conservation*, 17: 483-491.

- Alongi, D.M. 2002. Present state and future of the world's mangrove forests. *Environmental Conservation*, 29: 331–349.
- Dasgupta, N., Nandy, P., Sengupta, C., Das, S. 2018. Genetic variation in relation to adaptability of three mangrove species from the Indian Sundarbans assessed with RAPD and ISSR markers. *Journal of Forestry Research*, 29: 301-310.
- Duke, N. C., Benzie, J. A., Goodall, J. A., Ballment, E. R. 1998. Genetic structure and evolution of species in the mangrove genus *Avicennia* (Avicenniaceae) in the Indo-West Pacific. *Evolution*, 52: 1612-1626.
- Friess, D. A., Krauss, K. W., Horstman, E. M., Balke, T., Bouma, T. J., Galli, D., Webb, E. L. 2012. Are all intertidal wetlands naturally created equal? Bottlenecks, thresholds and knowledge gaps to mangrove and salt marsh ecosystems. *Biology Review*.87: 346–366.
- Ge, X. J., Sun, M. 1999. Reproductive biology and genetic diversity of a cryptoviviparous mangrove *Aegiceras corniculatum* (Myrsinaceae) using allozyme and inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis. *Molecular Ecology*, 8: 2061–2069.
- Ge, X.J., Sun, M. 2001. Population genetic structure of *Ceriops tagal* (Rhizophoraceae) in Thailand and China. *Wetlands. Ecology Management*, 9: 203-209.
- Giri, C., Zhu, Z., Tieszen, L.L., Singh, A., Gillette, S, Kelmelis, J.A. 2008. Mangrove forest distributions and dynamics (1975–2005) of the tsunami-affected region of Asia. *Journal of Gogeography*, 35: 519–528.
- Hamrick, J. L., Godt, M. J. W. 1996. Conservation genetics of endemic plant species. In: Avise, J. C., Hamrick, J. L. Eds. *Conservation Genetics, Case Histories from Nature*. Chapman & Hall, New York, Pp:281–304.
- Huang, H., Dane, F., Norton, J.D. 1994. Allozyme diversity in Chinese, Seguin and American chestnut (*Castanea* spp.). *Theoretical Applied Genetic*, 88: 981-985.
- Huang, Y., Tan, F., Su, G., Deng, S., He, H., Shi, S. 2008. Population genetic structure of three tree species in the mangrove genus *Ceriops* (Rhizophoraceae) from the Indo West Pacific. *Genetica*, 133: 47-56.
- Jian, S.G., Tang, T., Zhong, Y., Shi, S. B. 2004. Variation in inter-simple sequence repeat (ISSR) in mangrove and non-mangrove populations of *Heritiera littoralis* (Sterculiaceae) from China an Australia. *Aquatic Botany*, 79: 75–86.
- Kahrood, H. V., Korori, S. A. A., Pirseyedi, M., Shirvany, A., Danehkar, A. 2008. Genetic variation of mangrove species *Avicennia marina* in Iran revealed by microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, 7:
- Kaynap, J., Kondo, K. 2011. Analysis of the genetic diversity between plantation grown and natural grown *Kandelia obovata* by the inter-simple sequence repeats (ISSR) method. *Mangrove Science*, 8: 19-26.
- Lakshmi, M., Rajalakshmi, S., Parani, M., Anuratha, C.S., Parida, A. 1997. Molecular phylogeny of mangroves: I. Use of molecular markers in accessing

- the intraspecific genetic variability in the mangrove species *Acanthus ilicifolius* Linn. (Acanthaceae). *Theoretical Applied Genetic*, 94: 1121–1127.
- Ledig, F. T. 1992. Human impacts on genetic diversity in forest ecosystems. *Oikos*, : 87-108.
- Li, H., Chen, G. 2008. Genetic relationship among species in the genus *Sonneratia* in China as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Biochemistry Systematic Ecology*, 36: 392-398.
- Li, H., Chen, G. 2009. Genetic variation within the endangered mangrove species *Sonneratia paracaseolaris* (Sonneratiaceae) detected by inter-simple sequence repeat repeats analysis. *Biochemistry Systematic Ecology*, 37: 260-265.
- Manurung, J., Siregar, I. Z., Kusmana, C., Dwiyantri, F. G. 2017. Genetic variation of the mangrove species *Avicennia marina* in heavy metal polluted estuaries of Cilegon Industrial Area, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 18: 1109-1115.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceeding of the national Academic Sciences*, 70:3321–3323.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- Parani, M., Lakshmi, M., Elango, S., Ram, N., Anuratha, C., Parida, A. 1997. Molecular phylogeny of mangroves II. Intra-and inter-specific variation in *Avicennia* revealed by RAPD and RFLP markers. *Genome*, 40: 487-495.
- Peakall, R., Smouse, P. E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Schaeffer-Novelli, Y., Cintron-Molero, G., Soares, M.L.G. 2002. Mangroves as indicators of sea level change in the muddy coasts of the world. In: *Proceedings in Marine Science*, Elsevier, New York, NY, USA. Pp: 245–262.
- Su, G., Huang, Y., Tan, F. 2007. Conservation genetics of *Lumnitzera littorea* (Combretaceae), an endangered mangrove from the Indo-West Pacific. *Marine Biology*, 150: 321–8.
- Su, G.H., Huang, Y.L., Tan, F.X., Ni, X.W., Tang, T., Shi, S. H. 2006. Genetic variation in *Lumnitzera racemosa*, a mangrove species from the Indo-West Pacific. *Aquatic Botany*, 84: 341-346.
- Young, A., Boyle, T., Brown, T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 11: 413–418.