ژنتیک نوین
دوره پانزدهم ، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹
صفحه ۱۳۶ - ۱۲۳

تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی پروانه جوانه‌خوار بلوط (*Tortrix viridana* L. Lepidoptera: Tortricidae) در جنگل‌های زاگرس شمالی

Genetic diversity and population structure in green oak leaf roller (*Tortrix viridana* L. Lepidoptera: Tortricidae) from North-Zagros forests

حمید غیاث الدین[۱]، نقی شعبانیان*[۲]، محمدرضا کاووسی[۱]، رضا طالبی[۳]، وحیده پیام نور[۱]

۱- دانشجوی دکتری، دانشیاران، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده علوم جنگل گرگان، گرگان، ایران
۲- دانشیار، دانشگاه کردستان، گروه جنگلداری، مرکز پژوهش و توسعه جنگلداری زاگرس شمالی، سنندج، ایران
۳- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران

Ghiasoddin H[1], Shabanian N[*2], Kavoosi MR[1], Talebi R[3], Payamnoor V[1]

1- PhD Student, Associate Professors, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Forest sciences Faculty, Iran
2- Associate Professor, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
3- Assistant Professor, Islamic Azad University, Branch of Sanandaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: N.shabanian@uok.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۲/۰۳)

چکیده

پروانه جوانه‌خوار بلوط (*Tortrix viridana* L.) به‌عنوان زیان‌بارترین آفت درختان بلوط در جنگل‌های زاگرس، از طریق تغذیه از جوانه‌های زایای درختان خسارت سنگینی به بلوط‌ها وارد می‌کند. با وجود اهمیت کنترل آن، در رابطه با ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی این آفت در سطح DNA اطلاعات کمی در دسترس است. در این مطالعه تنوع و ساختار ژنتیکی ۱۶ جمعیت (شامل ۱۰۵ ژنوتیپ) با استفاده از دو نشانگر ژنتیکی ISSR و RAPD تجزیه و تحلیل شد. با استفاده از ۱۰ آغازگر از نشانگر ISSR در مجموع ۱۲۷ نوار قابل امتیازدهی با میانگین ۱۲/۷ نوار برای هر نشانگر به‌دست آمد که از مجموع این نوارها تعداد ۱۲۱ نوار (۹۵ درصد) نوارهای تشکیل شده چندشکل بودند. هم‌چنین از هشت آغازگر RAPD نیز ۱۰۵ نوار با میانگین ۱۳/۱ نوار در هر آغازگر و با مجموع ۹۹ نوار چندشکل (۹۳ درصد) تکثیر شد. ضریب تمایز ژنتیکی بین‌جمعیتی (Φ_{St}) برآورد شده از دو نشانگر ISSR و RAPD به‌ترتیب برابر با ۰/۲۶ و ۰/۱۸ بود. تجزیه واریانس مولکولی داده‌های دو نشانگر ISSR و RAPD نشان داد که بخش عمده تنوع ژنتیکی کل مشاهده‌شده ناشی از تنوع ژنتیکی درون‌جمعیت‌ها است. جریان ژنی برآوردشده بین جمعیت‌ها بر اساس نشانگر ISSR ۰/٤٦١، و بر اساس نشانگر RAPD ۰/۵۲۷ بود که نشان‌دهنده جریان ژنی ضعیفی بین جمعیت‌هاست. دندروگرام UPGMA مبتنی بر هر دوی سیستم‌های نشانگری استفاده‌شده جمعیت‌های مورد مطالعه را بدون هیچ رابطه مشخصی با فاصله جغرافیایی آن‌ها در خوشه‌های مجزا گروه‌بندی کرد. اطلاعات این مطالعه می‌تواند برای پایه‌ریزی استراتژی‌های مدیریت یکپارچه این آفت در جنگل‌های زاگرس سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی

پروانه جوانه‌خوار بلوط
توالی‌های تکراری ساده میانی
چندشکلی
نشانگر ژنتیکی
Tortrix

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

مقدمه

جنگل‌های زاگرس بعد از جنگل‌های شمال، مهم‌ترین و باارزش‌ترین جنگل‌های کشور هستند که حفاظت از آب و خاک در بعد ملی، مهیا کردن شرایط زیستی برای ساکنان محلی و تولید محصول‌های غیرچوبی از مهم‌ترین کارکردهای این جنگل‌ها به‌شمار می‌آیند (Jazirehi and Ebrahimi-Rastaghi 2003). حیات و پایداری این جنگل‌ها به‌وسیله‌ی عوامل متعددی از جمله پروانه جوانه‌خوار بلوط (*Tortrix viridana* L.) تهدید می‌شود (Marvi-Mohajer 2005). دامنه میزبانی آفت جوانه‌خوار بلوط محدود به گونه‌های جنس بلوط است (Hunter 1990; Merle 1999; Hunter et al. 1997; Schroeder and Degen 2008)، به‌طوری‌که محدوده پراکندگی آن با گستره جغرافیایی پراکنش میزبان آن همبستگی دارد. در ایران این آفت در حال حاضر به شدت در استان‌های آذربایجان غربی، کهگیلویه و بویراحمد، کردستان، لرستان و کرمانشاه پراکنده است (Sabeti 1995). انبوهی این آفت به‌لحاظ اندازه جمعیت اغلب با نوسانات زیادی همراه است، به‌طوری‌که در دوره‌هایی گستره‌ی جمعیت‌های آن کوچک (دوره‌های خفته) و در دوره‌هایی بزرگ است (دوره‌های طغیان)؛ این وضعیت برای آفات گیاه‌خوار طبیعی است (Horstmann 1984; Hunter et al. 1997). افزون بر این ظهور این آفت تحت تأثیر فنولوژی بلوط‌ها قرار می‌گیرد (Hunter 1990)، به‌طوری‌که لاروهای سن اول این آفت برای نموی موفق خود به طبیعت فیزیولوژیکی جوانه‌های تازه بازشده نیاز دارند (Ivashov et al. 2002). افزون بر این، برای ظهور موفق پروانه جوانه‌خوار بلوط نیاز به سازگاری‌های اکوفیزیولوژیکی و ژنتیکی آفت به میزبان‌های فنولوژیکی مختلف در داخل جنس *Quercus* نشان داده شده است (Du Merle 1999). این آفت دارای یک نسل در سال بوده و زمستان‌گذرانی آن به‌صورت تخم است. خسارت آن هم‌زمان با خروج لاروهای نئونات از اواخر اسفندماه شروع شده و سن‌های اول و دوم لاروها عملاً در داخل جوانه زندگی می‌کنند. لاروهای سن سوم پس از خروج از جوانه‌ها شروع به تغذیه از برگ‌های جوان کرده و در ضمن تغذیه، برگ‌ها را تا کرده و تار می‌تنند، ولی شدت تغذیه و خسارت بالا در سن‌های چهارم و پنجم لاروی ظاهر شده به‌طوری‌که در بعضی از موارد و در دوره‌های طغیان درختان را به کلی عاری از برگ می‌کنند (Fazeli and Abaei 1989). چنین برگ‌زدایی ناشی از تغذیه آفت به‌طور طبیعی منجر به کاهش در تولید چوب می‌شود چرا که بلوط‌ها بعد از تغذیه آفت، مواد غذایی دریافتی از خاک را به‌جای تولید چوب به سمت تشکیل برگ‌های جدید تغییر مسیر می‌دهند (Schroeder and Degen 2008). جوانه‌خوار بلوط برای اولین بار در دنیا در سال ۱۹۲۲ از جنگل‌های بلوط کشور انگلستان گزارش شد (Behdad 1988). این آفت در ایران نخستین بار توسط آمزل و عبایی در سال ۱۳۵٤ از منطقه ماکو و سردشت جمع‌آوری و شناسایی شد و سپس در سال ۱۳٦۲، عبایی این آفت را در جنگل‌های بلوط استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری کرد و خسارت آن را گزارش داد. در سال‌های اخیر آفت پروانه جوانه‌خوار بلوط همواره به‌عنوان یکی از دلایل کاهش جمعیت بلوط‌ها در زاگرس شناخته شده است. برگ‌زدایی بلوط‌ها با ضعیف‌کردن این درختان نقطه شروع کاهش اندازه جمعیت در بلوط‌هاست (Hartmann and Blank 1992). صرف‌نظر از مطالب اشاره شده در بالا و مطالعات انجام‌شده در زمینه پویایی جمعیت‌های این پروانه، به مطالعه تنوع ژنتیکی این آفت توجه کمی شده است. مطالعات متعدد در بسیاری از حشرات نشان داده‌اند که فاکتورهای مختلفی (گزینش، رانش ژنتیکی، مهاجرت) بر ساختار ژنتیکی و تمایز ژنتیکی جمعیت‌های حشرات تأثیر می‌گذارند (Bhau et al. 2014). تغییرپذیری ژنتیکی با افزایش ایزولاسیون در جمعیت‌های جداشده ممکن است از بین برود. کنترل بیولوژیکی آفت به‌طور سنتی بر روش‌های فنوتیپی و مورفولوژیکی گونه میزبان و پارازیتوئید آن‌ها مبتنی است (Wharton et al. 2000; Wang and Messing 2003). در چنین شرایطی، ارزیابی دقیق پراکنش جغرافیایی این آفات در گستره رشد میزبان آن‌ها اهمیت کاربردی دارد.

سودمندی و کارایی نشانگرهای مولکولی برای تجزیه و تحلیل فاصله و ساختار ژنتیکی جمعیت‌های آفات و میزبان آن‌ها به اثبات رسیده است. چندشکلی DNA را می‌توان با استفاده از تکنیک‌های مبتنی بر تکثیر نواحی خاصی از DNAی ژنومی آشکار کرد (Williams et al. 1990). نشانگرهای مولکولی چندشکلی نواحی تکرای ساده میانی (ISSR) و DNAی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

چندشکل تکثیریافته تصادفی (RAPD) به‌عنوان روشی ساده، تکرارپذیر و کم‌هزینه، تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها را با آشکارسازی الگوی تکثیر DNAی ژنومی بررسی می‌کند. این تکنیک به‌مانند سایر نشانگرهای مولکولی مبتنی بر تکثیر DNAی ژنومی، چندشکلی را به‌طور سریع و موثر آشکار می‌کند (Benecke et al. 1998; Bertin et al. 2002; Black and Du Tea 1997). در رابطه با تنوع و تغییرپذیری ژنتیکی درون و بین آفت پروانه جوانه‌خوار بلوط در جنگل‌های بلوط زاگرس اطلاعاتی در دسترس نیست. در مطالعه‌ای بر بروی تنوع آیروزایمی پروانه حوانه‌خوار بلوط، Simchuk et al.(1999) سطح بالایی از هتروزایگوسیتی در سطح لوکوس‌های مختلف ایزوزایمی در جمعیت‌های این آفت را گزارش کردند. افزون بر این، در مطالعه دیگری نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های این آفت در مقیاس جغرافیایی کوچک به‌کار گرفته شده‌اند (Schroeder and Scholz 2005). هم‌چنین Schroeder and Degen(2008) با مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های پروانه جوانه‌خوار بلوط بر اساس نشانگرهای AFLP گزارش دادند که بخش‌بندی تنوع ژنتیکی آشکارشده به تنوع ژنتیکی درون و بین‌جمعیتی با توان این آفت در مهاجرت و جایجایی بین جمعیت‌های مورد مطالعه ارتباط دارد. بر اساس گزارش مطالعه یادشده، توان و ظرفیت این آفت در مهاجرت و جابجایی بین جمعیت‌های مختلف عامل مهمی برای پخش‌شدن آفت در درختان میزبان مختلف و جمعیت‌های بیشتر و به‌دنبال آن وقوع طغیان‌های شدید است. هم‌چنین در گزارش این مطالعه آمده است که از چهار جمعیت (متشکل از ٤٠١ آفت)، ساختار ژنتیکی مکانی آشکارشده با رفتار آمیزشی و الگوهای تغذیه‌ای پروانه‌های داخل جمعیت‌ها همخوانی دارد. در مطالعه دیگری بر پروانه جوانه‌خوار بلوط، Schroeder et al. (2010) با استفاده از هشت نشانگر مولکولی ریزماهواره‌ای تنوع ژنتیکی بالایی در آفت جوانه‌خوار بلوط (*T. viridana*) در یک جمعیت جدا شده از نظر جغرافیایی در منطقه Bashkir Transural را گزارش کرده‌اند. بر اساس گزارش این مطالعه، تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌های جدا شده بیشتر از جمعیت در مرکز منطقه توزیع مشاهده شده است. در تحقیقات مشابه در جنگل‌های اروپا تنوع ژنتیکی درون جمعیتی بسیار بالای پروانه جوانه‌خوار بلوط (*T. viridana*) با استفاده از نشانگرهای مولکولی میتوکندریایی و نشانگر AFLP گزارش شد (Schroeder and Degen 2008; Andrei et al. 1999). ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های پروانه جوانه‌خوار بلوط می‌تواند به تعیین ساختار ژنتیکی این آفت، میزان جریان ژنی بین جمعیت‌ها و وضعیت تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها کمک کند. چنین اطلاعاتی برای پی‌بردن به وضعیت پراکنش این آفت در جنگل بلوط زاگرس شمالی حیاتی خواهد بود، چرا که پراکنش آفت یکی از مؤلفه‌های کلیدی و مهم در رابطه با اجرای برنامه‌های مدیریت آفت به‌منظور کنترل موثر آن است. افزون بر این، این اطلاعات می‌تواند برای انتخاب استراتژی‌های مناسب و کارآمد کنترل این آفت سودمند باشد (Aylor and Irwin 1999). هدف از این مطالعه، ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت‌هایی از پروانه جوانه‌خوار بلوط در بخش شمالی جنگل‌های زاگرس بود.

مواد و روش‌ها

با ظهور آفت نمونه‌های لارو سن چهار پروانه جوانه‌خوار بلوط از سطح جنگل‌های طبیعی شهرستان مریوان در استان کردستان جمع‌آوری شدند. برای این منظور از ١٦ جمعیت مختلف (جدول ١، شکل ١) با اندازه نمونه ٥ تا ١٠ لارو در هر محل (در مجموع ١٠٣ نمونه، جدول ١)، از روی برگ درختان بلوط آلوده به این آفت نمونه‌برداری شد.

حشرات جمع‌آوری‌شده به آزمایشگاه منتقل و بعد از تمیز شدن در میکروتیوب حاوی الکل ٧٥٪ قرار گرفتند، و تا زمان استخراج DNA در ٢٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. قبل از استخراج DNA، به‌منظور حذف الکل، نمونه‌ها به مدت کوتاهی در آب‌مقطر استریل غوطه‌ور شدند. هر یک ار نمونه‌ها در ١٢٠ میکرولیتر بافر استخراج (حاوی ٠/١ مولار NaCl، ٠/٢ مولار ساکارز، ٠/٠١ مولار Na_2EDTA، ٠/٠٣ مولار Tris-Hcl pH 8.0) در یک میکروتیوب ١/٥ میلی‌لیتری هموژنیزه شدند. سپس ٣٠ میکرولیتر بافر لیزکننده (شامل ٠/٢٥ مولار Na_2-EDTA، ٢/٥ درصد SDS، ٠/٥ مولار Tris-HCl pH) و دی‌اتیل‌پیروکربنات به هر یک از میکروتیوب‌ها اضافه و در دمای ٦٥ درجه برای مدت

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

۴۰ دقیقه انکوبه شدند. در ادامه ۵۰ میکرولیتر از استات پتاسیم ۵ مولار به سوسپانسون موجود در تیوب‌ها اضافه و ورتکس شدند. سپس تیوب‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در یخ قرار گرفتند و در ادامه برای مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در ادامه لایه رویی به یک میکروتیوب جدید انتقال داده شد و دوبرابر حجم آن اتانول سرد ۹۵٪ به هر میکروتیوب اضافه شد. سپس با سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه پلیت DNA حاصل شد. سپس این پلیت با اتانول ۷۰٪ سرد شتشو داده شد و در اتانول ۱۰۰٪ سرد قرار گرفت. DNAی استخراج‌شده با یک حجم از اتانول مطلق سرد و ۰/۱ حجم از استات آمونیوم ۷/۵ مولار دوباره ترسیب شد و پس از سانتریفیوژ، با اتانول مطلق شستشو داده شد. نمونه‌ی DNA به‌دست‌آمده از طریق هوادهی خشک و در ۵۰ میکرولیتر از بافر TE حل شد. کیفیت و کمیت نمونه‌های DNA استخراج‌شده با استفاده از جذب بر روی طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر (BioPhotometer، Eppendorf) کنترل، و نمونه‌های DNA تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت نهایی هر یک از نمونه‌های DNA با استفاده از بافر TE بر روی ۲۰ نانوگرم/میکرولیتر برای تکثیر PCR رقیق شد.

برای انجام این مطالعه در مجموع ۳۰ آغازگر ISSR و ۱۵ آغازگر RAPD به‌لحاظ تکثیر نوارهای قوی، چندشکلی، و تکرارپذیری نوارهای تکثیرشده ارزیابی شدند. از این تعداد آغازگر، ۱۰ آغازگر از نشانگر ISSR و ۸ آغازگر از نشانگر RAPD بر اساس چندشکلی و تکرارپذیری برای تکثیر DNA انتخاب شدند (جدول ۲). واکنش‌های تکثیر با واسرشت‌سازی آغازین ۱۲۰ ثانیه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۳۰ چرخه‌ی متشکل از ۶۰ ثانیه واسرشت‌سازی در دمای ۹۲ درجه، ۶۰ ثانیه در دمای ۵۴-۳۵ درجه و ۱۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد با مرحله بسط نهایی ۳۰۰ ثانیه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. به‌منظور کاهش تغییرات در واکنش تکثیر، از مسترمیکس متشکل از اجزای واکنش استفاده شد.

جدول ۱- جمعیت‌های نمونه‌برداری و تعداد ژنوتیپ‌های نمونه‌برداری شده از هر جمعیت

جمعیت	اختصار	ارتفاع (متر از سطح دریا)	طول جغرافیایی (E)	عرض جغرافیایی (N)	تعداد ژنوتیپ
ره‌شه‌دی	RD	۱۴۱۳	۱۷º۴۶′۴۳″	۳۵º۲۵′۲۷″	۵
نچی	NC	۱۳۲۹	۴۶º ۱۷′ ۴۹″	۳۵º ۳۴′ ۳۱″	۶
ماسیدر	MA	۱۳۹۲	۴۶º ۱۸′ ۳۳″	۳۵º ۳۶′ ۳۱″	۵
سعدآباد	SA	۱۳۱۸	۴۶º ۱۵′ ۴۵″	۳۵º ۴۰′ ۲۸″	۵
قامیشله	GH	۱۵۰۸	۴۵º ۴۸′ ۴۶″	۳۵º ۵۰′ ۳۲″	۱۰
گویله	GA	۱۳۱۶	۴۵º ۶۴′ ۴۹″	۳۵º ۵۱′ ۳۴″	۷
عصرآباد	AS	۱۶۴۳	۴۶º ۰۰′ ۴۹″	۳۵º ۵۶′ ۳۴″	۵
دره پنبه دانه	DD	۱۳۶۳	۴۵º ۴۶′ ۴۸″	۳۵º ۵۶′ ۳۶″	۷
بیلو	BO	۱۴۵۲	۴۵º ۴۸′ ۴۹″	۳۵º ۵۸′ ۳۵″	۸
گله	GL	۱۳۱۰	۴۵º ۳۸′ ۳۹″	۲۵º ۶۸′ ۳۷″	۸
کولان	KL	۱۳۷۳	۴۵º ۲۸′ ۳۵″	۳۵º ۴۸′ ۱۵″	۷
خانم‌کهن	KK	۱۳۲۳	۴۶º ۲۵′ ۴۹″	۳۵º ۴۶′ ۳۳″	۷
بالک	BL	۱۳۴۹	۴۶º ۳۸′ ۵۱″	۳۵º ۴۶′ ۳۴″	۵
کولیت حاج‌عبدالله	KH	۱۳۱۸	۴۶º ۰۰′ ۳۵″	۳۵º ۵۲′ ۲۴″	۷
باغان	BG	۱۳۷۴	۴۶º ۳۴′ ۳۸″	۳۵º ۲۵′ ۳۵″	۶
محمده	MD	۱۵۷۶	۴۵º ۴۶′ ۴۲″	۳۵º ۵۷′ ۴۳″	۷
کل	۱۶	-	-	-	۱۰۵

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر بافر واکنش (۱/۸ میلی‌مولار $MgCl_2^+$، ۱۵۰ میکرومولار dNTP، و ۱ واحد تگ‌پلیمراز)، ۵ میکرومول آغازگر، ۵۰-۳۰ نانوگرم DNA ژنومی و ٤ میکرولیتر آب دیونیزه در دستگاه ترمال‌سایکلر (C-1000, BioRad) انجام گرفت. محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۵٪ با بافر TAE ۰/۵X تفکیک و نوارهای تکثیرشده با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید ۰/۰۵ درصد رنگ‌آمیزی شدند. آشکارسازی نوارهای حاصل و نمره‌دهی نوارها با استفاده از سیستم ژل‌داکیومنت (*Gel Doc*™ XR, BioRad) و نرم‌افزار آن انجام گرفت.

نوارهای تکثیرشده از آغازگرهای ISSR و IRAP به‌صورت وجود (۱) یا عدم‌وجود (صفر) نمره‌دهی و ثبت شدند و با فرض وجود تعادل هاردی – وینبرگ با استفاده از برنامه‌های GenAlEx 6.1 (Peakall and Smouse 2006)، XLSTAT®، POPGENE، پارامترهای ژنتیکی از جمله تعداد کل نوارهای تکثیر شده (TAB)، تعداد نوارهای چندشکل (PB)، درصد چندشکلی (PP)، شاخص اطلاعات چندشکلی (PIC)، و قدرت تمایز (PD) برای هر یک از آغازگرها محاسبه شد (جدول ۲). افزون بر این درصد مکان‌های ژنی چندشکل (PP%)، تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در هر لوکوس (A_O)، شاخص تنوع ژنی نی (*h*) (Nei 1978) و شاخص اطلاعات شانون (I) برای هر یک از جمعیت‌ها محاسبه شدند.

جدول ۲- توالی و اطلاعات ژنتیکی به‌دست آمده از آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه

آغازگر	توالی ′۳→′۵	AT (ºC)	TAB	PB	PP (%)	PIC	PD
ISSR							
UBC 812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	٤٩/٠	١٢	١٢	١٠٠	٠/٤٥	٠/٤٩
UBC 816	GAGAGAGAGAGAGAGYC	٥٥/٧	١١	٩	٨٢	٠/٢٩	٠/٣٢
UBC 818	CACACACACACACACAG	٥٠/٦	١٥	١٥	١٠٠	٠/٣٢	٠/٥٠
UBC 860	TCTCTCTCTCTCTCTCRT	٤٩/٥	١٢	١٢	١٠٠	٠/٤٦	٠/٧١
UBC 861	ACCACCACCACCACCACC	٥٧/٠	١٣	١٣	١٠٠	٠/٤٤	٠/٦١
UBC 866	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	٥٦/٦	١١	٩	٨١/٨	٠/٣٩	٠/٦٨
UBC 868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	٤٩/٥	١٥	١٥	١٠٠	٠/٣١	٠/٤١
UBC 876	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	٤٩/٠	١٤	١٤	١٠٠	٠/٤٧	٠/٨٠
UBC 880	GACAGACAGACAGACA	٥٤/١	١٢	١٠	٨٣/٣	٠/٤٢	٠/٧٣
nIssr3	AGGGAGAGGAGGAGGAGG	٥٥/٧	١٢	١٢	١٠٠	٠/٤٩	٠/٦٧
میانگین		–	١٢/٧	١٢/١	٩٤/٧	٠/٤٠	٠/٥٩
RAPD							
OPAH9	AGAACCGAGG	٣٤	١٥	١٥	١٠٠	٠/٣٩	٠/٤٧
OPAH10	GGGATGACCA	٣٣	١٣	١٣	١٠٠	٠/٢٨	٠/٤١
OPAH13	TGAGTCCGCA	٣٦	١٩	١٨	٩٤/٧	٠/٢٦	٠/٢٩
OPAH14	TGTGGCCGAA	٣٣	١٢	١٢	١٠٠	٠/٢٩	٠/٣٤
OPAF10	GGTTGGAGAC	٣٥	١١	١٠	٩٠/٩	٠/٣٢	٠/٣٩
OPAG19	AGCCTCGGTT	٣٥	١٢	١٢	١٠٠	٠/٣٠	٠/٣٦
OPAG20	TGCGCTCCTC	٣٦	١١	٩	٩٠/٩	٠/٢١	٠/٣٢
OPAG13	GGCTTGGCGA	٣٦	١٢	١٠	١٠٠	٠/١٩	٠/٢١
میانگین		–	١٣/١	١٢/٣	٩٣	٠/٢٨	٠/٣٦

AT: دمای بهینه اتصال؛ TAB: تعداد نوار تکثیر شده؛ PB: تعداد نوار چندشکل؛ PP: درصد چندشکلی؛ PIC: شاخص اطلاعات چندشکلی؛ PD: قدرت تمایز

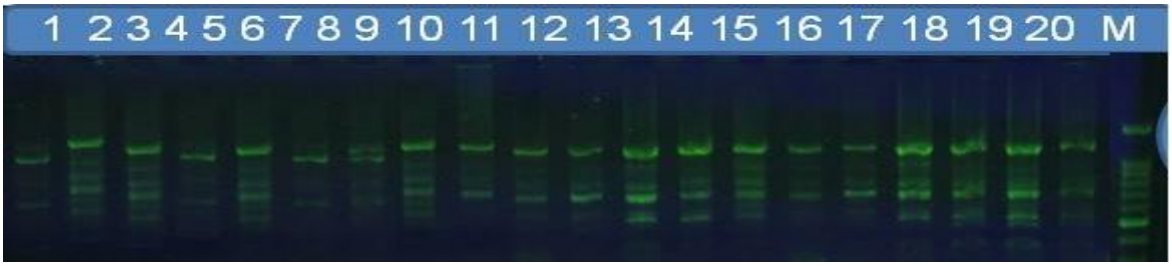
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه با برآورد پارامترهای تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها و جریان ژنی (Nei 1973) بیشتر مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور تفکیک واریانس ژنتیکی کل به واریانس ژنتیکی درون‌جمعیتی و واریانس ژنتیکی بین‌جمعیتی، تجزیهٔ واریانس مولکولی (AMOVA) با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx انجام شد (Excoffier et al. 1992). درخت فیلوژنتیکی براساس روش UPGMA و فاصلهٔ ژنتیکی نی با استفاده از نسخه ۵/۰۵ نرم‌افزار MEGA ترسیم شد. همچنین با استفاده از نسخه ۲,۳,٤ نرم‌افزار (Pritchard et al. 2000) STRUCTURE ساختار جمعیتی آفت مورد بررسی بیشتری قرار گرفت. این شبیه‌سازی با درنظر گرفتن تعداد جمعیت‌ها (K) از یک تا ۱۰ و با سه تکرار انجام شد.

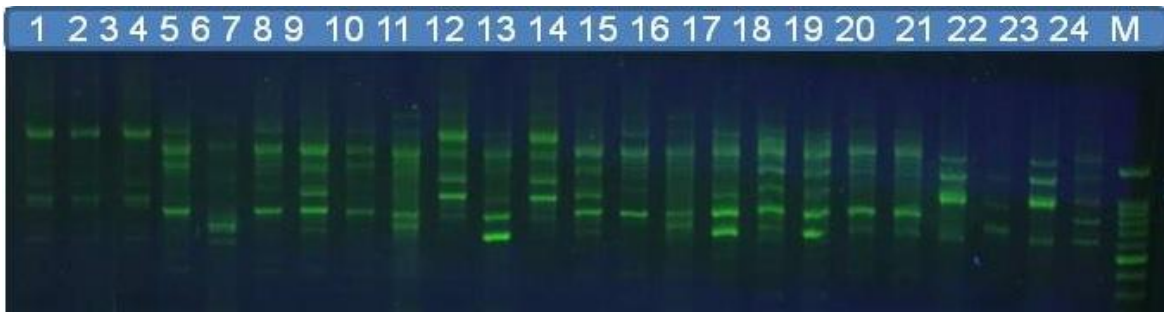
نتایج

در این مطالعه از دو نشانگر مولکولی ISSR و RAPD استفاده شد. در ارزیابی اولیه، به‌ترتیب از مجموع ۳۱ و ۱۵ آغازگر از این دو نشانگر، ۱۰ آغازگر ISSR و ۸ آغازگر RAPD با الگوی نواری قابل‌نمره‌دهی و تکرارپذیر برای برآورد تنوع ژنتیکی جمعیت‌های پروانه جوانه‌خوار انتخاب شدند (شکل ۱ و شکل ۲؛ جدول ۲). با استفاده از نشانگرهای یادشده، تنوع ژنتیکی ۱۰۵ ژنوتیپ انتخاب‌شده از ۱٦ جمعیت *T. viridana* مورد بررسی قرار گرفت. در جدول ۲ شاخص‌های برآوردشده از کارایی هر یک از آغازگرها نشان داده شده است. همان‌طور که این جدول نشان می‌دهد مجموع تعداد نوارهای ثبت‌شده برای آغازگرهای ISSR ۱۲۷ و برای آغازگرهای RAPD ۱۰۵ نوار بود که از این تعداد به ترتیب ۱۲۱ (۹٤/۷ درصد) و ۹۹ نوار (۹۳ درصد) چندشکل بودند (جدول ۲).

تعداد نوار تکثیرشده از آغازگرهای ISSR از ۱۱ (UBC816 و UBC866) تا ۱۵ (UBC818 و UBC868) با میانگین ۱۲/۷ نوار و از آغازگرهای RAPD از ۱۱ (OPAF10 و OPAG20) تا ۱۹ (OPAH13) با میانگین ۱۳/۱ نوار متفاوت بودند. در میان نشانگرهای ISSR، آغازگرهای UBC818 و UBC868 با ۱۵ نوار چندشکل و در میان نشانگرهای RAPD، آغازگر OPAH13 با ۱۸ نوار چندشکل دارای بیشترین تعداد نوار چندشکل بودند (جدول ۲).



شکل ۱- الگوی نواردهی ژنوتیپ‌هایی از جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از آغازگر UBC818 (نشانگر ISSR). ۱-۲۰: برخی از ژنوتیپ‌ها؛ M: خط‌کش ژنی ۱ کیلوبازی.



شکل ۲- الگوی نواردهی ژنوتیپ‌هایی از جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از آغازگر OPAH13 (نشانگر RAPD). ۱-۲۰: برخی از ژنوتیپ‌ها؛ M: خط‌کش ژنی ۱ کیلوبازی.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

جدول ۳- خلاصه تجزیه تنوع ژنتیکی ISSR و RAPD جمعیت‌های *Tortrix viridana*

جمعیت	P (%)		*na*		*h*		I	
	ISSR	RAPD	ISSR	RAPD	ISSR	RAPD	ISSR	RAPD
RD	۷۵/۱۳	۸۰/۱۷	۱/۱۳	۱/۲۲	۰/۱۹	۰/۲۰	۰/۲۹	۰/۲۸
NC	٦۰/۱۸	۷۹/۲۸	۱/۱۵	۱/۲۲	۰/۲٤	۰/۲۲	۰/۳۳	۰/۳۰
MA	۷۱/۱۵	۷۱/۵۵	۱/۱۰	۱/۰٤	۰/۱٦	۰/۱۹	۰/۳۸	۰/۳۵
SA	٦۲/۱۵	۷۵/۷۳	۱/۲۲	۱/٤۲	۰/۱۸	۰/۲۰	۰/۳۵	۰/۳۵
GH	۵٤/۵۲	٤۸/۱۵	۱/۱۲	۱/۱۳	۰/۱۹	۰/۲۰	۰/۳۷	۰/۳۳
GA	٤۸/۱٦	٤۷/۷۱	۱/۰۵	۱/۰۰	۰/۱۵	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۲٦
AS	٤۸/٦٤	٤۸/٦۰	۱/۵٤	۱/۳۵	۰/۱۹	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۸
DD	٦۲/۲۵	۵۵/۵۲	۱/۲۵	۱/۱۳	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۲۳	۰/۲۹
BO	۵۸/۲٤	۵۷/۱۰	۱/۲۰	۱/۱۵	۰/۱۵	۰/۱٦	۰/۲٦	۰/۳۱
GL	۷٤/۳۵	۷۲/۳٤	۱/۱۲	۱/۱۱	۰/۱٤	۰/۲۰	۰/۲٦	۰/۳۲
KL	۵۹/۵٦	۵۰/۵۱	۱/۳۲	۱/۳۰	۰/۱٦	۰/۱۵	۰/۲۱	۰/۳۷
KK	۵۷/۱۲	٤۸/٤۹	۱/۲۵	۱/۲٦	۰/۱۵	۰/۱۸	۰/۱۹	۰/۳۰
BL	٦۵/۷۲	۵۰/۱۱	۱/۳۲	۱/۲٤	۰/۱٦	۰/۱۹	۰/۲۱	۰/۲۸
KH	۵٤/۷۱	٤٦/۱۰	۱/٤٦	۱/۲٤	۰/۱۷	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲٦
BG	٦۰/۲۳	۵۵/۱۰	۱/۰۰	۱/۱۳	۰/۲۰	۰/۲۵	۰/۲٤	۰/۳۳
MD	۵۸/۸۱	۵۲/۱۱	۱/۲۰	۱/۱۵	۰/۱۷	۰/۲۲	۰/۲٦	۰/۳٦
مج	٦۰/٦۸	۵۸/٦٦	۱/۲۱	۱/۱۹	۰/۱۷	۰/۲۰	۰/۲٦	۰/۳۰

P: درصد لوکوس‌های چندشکل؛ *na*: تعداد آلل مشاهده‌شده؛ *h*: تنوع ژنی نی؛ I؛ شاخص اطلاعات شانون (Lewontin 1972)؛ مج: میانگین در سطح جمعیت.

بیشترین مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای آغازگر nISSR (ISSR) با ۰/٤۹ و کمترین مقدار آن برای آغازگر OPAG13 (RAPD) با ۰/۱۹ ثبت شد (جدول ۲). همچنین شاخص قدرت تمایز نشانگر (PD) نیز از ۰/۲۱ (نشانگر OPAG13) تا ۰/۸۰ (نشانگر UBC876) متغیر بود (جدول ۲). در جدول ۳ خلاصه کارکرد هر دوی نشانگرهای ISSR و RAPD در سطح جمعیت از جمله درصد لوکوس‌های چندشکل، تعداد آلل مشاهده‌شده، تنوع ژنی و شاخص اطلاعات شانون (Lewontin 1972) نشان داده شده است. بر اساس نوارهای تکثیرشده از آغازگرهای ISSR بیشترین درصد چندشکلی در جمعیت ره‌شه‌دی (۷۵/۱۳) و کمترین آن در جمعیت گویله (٤۸/۱٦) آشکار شده است. حداکثر و حداقل این پارامتر بر اساس داده‌های حاصل از نشانگرهای RAPD به‌ترتیب در جمعیت‌های ره‌شه‌دی (۸۰/۱۷ درصد) و کولیت حاج‌عبدالله (٤٦/۱۰) مشاهده شده است.

همچنین بیشترین تعداد آلل مشاهده‌شده بر اساس نشانگرهای ISSR و RAPD به‌ترتیب در جمعیت‌های عصرآباد (۱/۵٤) و سعدآباد (۱/٤۲)، و کمترین این آماره به‌ترتیب در جمعیت‌های باغان (۱/۰۰) و گویله (۱/۰۰) مشاهده شده است. بر اساس نشانگر ISSR بیشترین و کمترین مقدار تنوع ژنی نی به‌ترتیب در جمعیت‌های نچی (۰/۲٤) و گله (۰/۱٤)، و بر اساس RAPD نیز به‌ترتیب در جمعیت‌های باغان (۰/۲۵) و گله (۰/۱۵) آشکار شده است. همچنین بیشترین و کمترین مقدار شاخص اطلاعات شانون بر اساس نشانگر ISSR برای جمعیت‌های ماسیدر (۰/۳۸) و عصرآباد (۰/۲۰)، و بر اساس نشانگر RAPD برای دو جمعیت کولان (۰/۳۷) و کولیت حاج‌عبدالله (۰/۲٦) ثبت شده است.

در جدول ٤ فاصلهٔ ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر اساس داده‌های ژنتیکی ISSR و RAPD نشان داده شده است. بر اساس داده‌های ISSR کمترین مقدار فاصلهٔ ژنتیکی (۰/۰۲۵) بین جمعیت‌های عصرآباد و کولیت حاج‌عبدالله و بیشترین آن (۰/۱۷۹) بین جمعیت‌های قامیشله و گله ثبت شد. همچنین بر اساس نشانگر RAPD دامنهٔ فاصله ژنتیکی جفت‌جمعیت‌ها از ۰/۰۱۹ (بین جمعیت‌های کولیت حاج‌عبدالله و گویله) تا ۰/۱۳۷ (بین جمعیت‌های گله و ره‌شه‌دی) متفاوت بود (جدول ٤).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

جدول ٤- فاصله ژنتیکی★ نی میان جفت‌جمعیت‌های *Tortrix viridana* بر اساس نشانگرهای ISSR و RAPD

جمعیت	RD	NC	MA	SA	GH	GA	AS	DD	BO	GL	KL	KK	BL	KH	BG	MD
RD	***	۰/۰٦٤	۰/۰۷۲	۰/۰۸۸	۰/۰۸۵	۰/۰۵۸	۰/۰۹۹	۰/۰۹۸	۰/۱۱۲	۰/۰۸۵	۰/۱۲۵	۰/۰۱۲	۰/۱۰٤	۰/۰۹۷	۰/۰۷۲	۰/۱۱۵
NC	۰//۰٦۸	***	۰/۰۷۵	۰/۰۹۵	۰/۰۹۸	۰/۰۸۵	۰/۰۸۷	۰/۰۸۷	۰/۱۱۰	۰/۰۸۹	۰/۱۲٦	۰/۰٦۸	۰/۱۰۳	۰/۱۱۷	۰/۱۰۰	۰/۱۲٤
MA	۰/۰٦۲	۰/۰٦۸	***	۰/۰٦۵	۰/۰۸۷	۰/۰۹۹	۰/۰۷۵	۰/۰۸۸	۰/۰۹۸	۰/۱۱۲	۰/۱۲۷	۰/۰٦۷	۰/۰٦۷	۰/۰۷۸	۰/۰٦۹	۰/۰۹۹
SA	۰/۰۷۷	۰/۰۳۹	۰/۰۳۵	***	۰/۰۷۷	۰/۱۱۰	۰/۰۸۷	۰/۰۵۸	۰/۰۸۷	۰/۱۱۸	۰/۰۹۸	۰/۰۹۸	۰/۰٦۲	۰/۰۸٤	۰/۰٦۵	۰/۰۹۵
GH	۰/۱۰۲	۰/۰۹۹	۰/۰۷٦	۰/۰۷۲	***	۰/۱۱۲	۰/۰٤٦	۰/۰٦۸	۰/۰۵۲	**۰/۱۷۹**	۰/۰۹۹	۰/۰٦٦	۰/۰۵۵	۰/۱۰۲	۰/۰۷٤	۰/۰۵۷
GA	۰/۱۳۵	۰/۰۹۹	۰/۰۸٦	۰/۰۹۰	۰/۰۸۷	***	۰/۱۱۱	۰/۰۷۸	۰/۱۱۰	۰/۰٦٤	۰/۰٤۷	۰/۱۱۲	۰/۰۵۲	۰/۰۷۲	۰/۰۸۵	۰/۱۰۲
AS	۰/۱۳۵	۰/۰۵٤	۰/۰۲۵	۰/۰۹۲	۰/۰۳۵	۰/۱۱۵	***	۰/۰۹۷	۰/۱۲۳	۰/۰۳۸	۰/۰۵۲	۰/۱۲۳	۰/۰۵۳	**۰/۰۲۵**	۰/۰۹٦	۰/۱۱۰
DD	۰/۱۳۱	۰/۰٦۵	۰/۰۸۱	۰/۰۹۵	۰/۰٦۸	۰/۱۱۰	۰/۱۲۵	***	۰/۱۲٤	۰/۰۷۸	۰/۰۵۵	۰/۱٤۵	۰/۰۵٦	۰/۰۵۲	۰/۰۹۹	۰/۱۱۲
BO	۰/۱۳۲	۰/۰۲۱	۰/۰۸۲	۰/۰٦۸	۰/۰۷۹	۰/۰۹۹	۰/۱۱۷	۰/۱۰۰	***	۰/۰۹۸	۰/۰۵۵	۰/۱٦۸	۰/۰۹۸	۰/۱۱۲	۰/۱۱۱	۰/۱۲۳
GL	**۰/۱۳۷**	۰/۰٦۵	۰/۰۸۷	۰/۰۷۵	۰/۰٤۵	۰/۰۷۹	۰/۱۲۸	۰/۰۹۸	۰/۱۲٤	***	۰/۰۵٦	۰/۱۲٤	۰/۰۹۷	۰/۱۱۸	۰/۰۵۲	۰/۱۰۵
KL	۰/۱۲٤	۰/۰٦٤	۰/۰۹۹	۰/۰۲۷	۰/۰۹۷	۰/۰۷۰	۰/۱۳۰	۰/۰۸۹	۰/۱۱۰	۰/۰۹۹	***	۰/۱۲۷	۰/۱۱۰	۰/۰۳۵	۰/۰۸۹	۰/۱۱۰
KK	۰/۱۳۲	۰/۰٦۵	۰/۰۹۸	۰/۰۲۸	۰/۰۹۸	۰/۰٦۸	۰/۱۰۱	۰/۰۸۷	۰/۱۰۲	۰/۱۲۱	۰/۰٦۹	***	۰/۱۰٦	۰/۰۸۵	۰/۰۸۷	۰/۰۹۸
BL	۰/۱۳۲	۰/۰٦٦	۰/۰۸۸	۰/۰۷۵	۰/۱۰۵	۰/۰۲۸	۰/۰۹۸	۰/۰۷۵	۰/۱۱۱	۰/۱۲۳	۰/۰۹۸	۰/۱۳۵	***	۰/۰۹٦	۰/۰٦٦	۰/۰۵۷
KH	۰/۱۲٤	۰/۰٦٦	۰/۰۸۵	۰/۰۷۲	۰/۱۰۲	**۰/۰۱۹**	۰/۰۸۷	۰/۰۷۲	۰/۱۲٤	۰/۱۲٤	۰/۰۸۷	۰/۱۱۰	۰/۱۲۳	***	۰/۰۹۸	۰/۱۱٤
BG	۰/۰۸۵	۰/۰۸۷	۰/۰٦۵	۰/۰۵۸	۰/۱۰۱	۰/۰۳۸	۰/۰۸٤	۰/۰۵۸	۰/۱۳۱	۰/۰۹۸	۰/۰۳٦	۰/۱۰۳	۰/۰۹۸	۰/۰۸۷	***	۰/۰٦۲
MD	۰/۰۸۱	۰/۰٦٦	۰/۰٦۲	۰/۰٦۸	۰/۰۹۸	۰/۰۳۷	۰/۰۵۷	۰/۰۹۸	۰/۰۹۹	۰/۱۱۰	۰/۰٤۸	۰/۱۲٤	۰/۰۸۷	۰/۰۷۰	۰/۰۲۷	***

★بالای محور قطری: بر اساس نشانگر ISSR؛ پائین محور قطری: بر اساس نشانگر RAPD.

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی بر اساس آغازگرهای ISSR و RAPD در ۱۰۹ ژنوتیپ از ۱٦ جمعیت *Tortrix viridana*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	اجزاء واریانس	درصد اجزاء واریانس	Φ_{ST}	N_m
ISSR							
بین‌جمعیتی	۱۷	۴۰۹۴/۸۸	۱۱۲/۸۶**	۵/۹۸	۲۱	۰/۲۶	۰/۴۶۱
درون‌جمعیتی	۲۴۷	۸۰۴۵/۱۶	۲۲/۵۵	۲۲/۵۲	۷۹	–	–
RAPD							
بین‌جمعیتی	۱۷	۱۰۱۲/۹۱۰	۴۵/۲۳**	۲/۵۳	۱۴	۰/۱۸	۰/۵۲۷
درون‌جمعیتی	۲۴۷	۵۰۴۶/۶۱۵	۱۵/۲۰	۱۵/۴	۸۶	–	–

** معنی‌دار در سطح یک درصد

تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) داده‌های حاصل از آغازگرهای ISSR نشان داد که ۷۹ درصد از تنوع ژنتیکی آشکارشده توسط نوارهای حاصل از این نشانگر ناشی از تنوع درون جمعیت‌ها و ۲۱ درصد باقی‌مانده مربوط به تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌هاست. به‌طور مشابه، براساس تجزیه واریانس مولکولی داده‌های آغازگرهای RAPD به‌ترتیب ۸٦ درصد و ١٤ درصد از تنوع ژنتیکی کل آشکار شده ناشی از تنوع درون و بین جمعیت‌هاست. شاخص تمایز بین جمعیت‌ها (Φ_{ST}) بر مبنای آغازگرهای ISSR و IRAP به‌ترتیب برابر با ۰/۲٦ و ۰/۱۸ برآورد شد. هم‌چنین مقدار جریان ژنی بین جمعیت‌ها بر اساس نشانگرهای ISSR ۰/٤٦١ و بر اساس نشانگرهای RAPD ۰/۵۲۷ برآورد شد (جدول ۵).

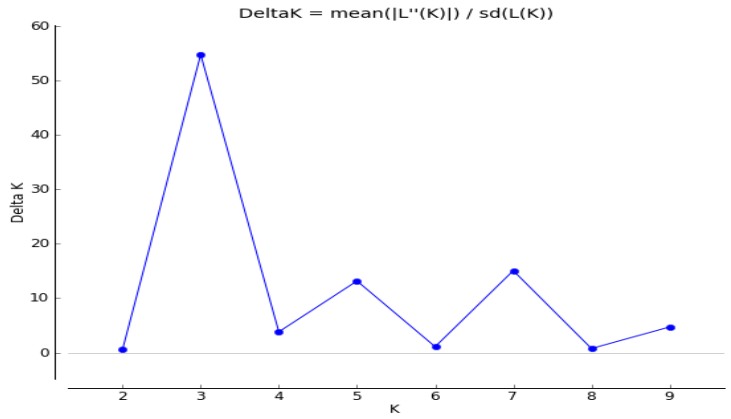
در تجزیه ساختار جمعیت با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE، با توجه به بالاترین مقدار عددی ΔK (شکل ۳)، جمعیت‌های لاروهای پروانه جوانه خوار بلوط مورد مطالعه به ۳ گروه تقسیم شدند، که بیشتر آن‌ها بر مبنای مناطق جغرافیایی جمع‌آوری شده بودند؛ هرچند برخی از نمونه‌ها نتوانستند براساس محل جغرافیایی جمع‌آوری شده از هم تفکیک شوند. همان‌طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود، هر ژنوتیپ و کد مربوط به آن، با ستون رنگی عمودی مشخص شده است. وجود بیش از یک رنگ بیانگر ساختار ژنتیکی مختلط است و این وضعیت در بین

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

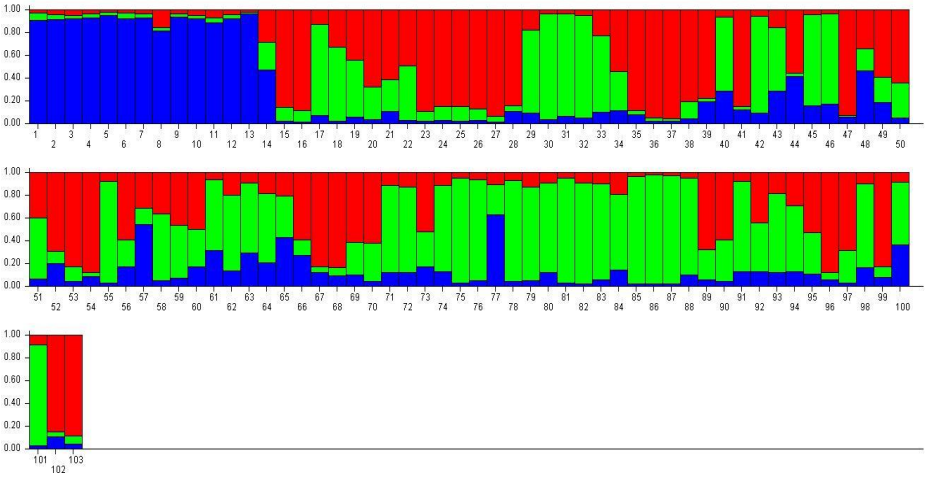
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

نمونه‌های مورد بررسی مشهود است؛ به بیانی دیگر ساختار ژنتیکی مختلط نمونه‌ها، بیانگر شباهت ژنتیکی آن‌ها با زیرجمعیت‌های دیگر است که می‌تواند دلیل بر میزان اختلاط ژنتیکی نمونه‌های هر جمعیت براساس مهاجرت و فاصله پروازی پروانه جوانه‌خوار بلوط باشد.

در مقایسه کارایی دو نشانگر مورد استفاده در این مطالعه (ISSR و RAPD)، نشانگرهای ISSR در مجموع ۱۲۱ نوار چندشکل و نشانگرهای RAPD نیز ۹۹ نوار چندشکل را تکثیر کردند. در جدول ٦ خلاصه پارامترهای مختلف نشانگری به‌دست آمده از این دو سیستم نشانگری نشان داده شده است. مقدار پارامترهایی همچون میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده، تعداد نوار به ازای هر آغازگر، درصد نوارهای چندشکل، تعداد متوسط نوار چندشکل به ازای هر آغازگر، و شاخص اطلاعات چندشکلی در آغازگرهای ISSR بیشتر از آغازگرهای RAPD است. اما شاخص نشانگر که بیانگر کارآمدی یک سیستم نشانگری است، به‌طور معنی‌داری در نشانگر RAPD بیشتر از نشانگر ISSR است؛ که نشان‌دهنده این است که آغازگرهای RAPD در آشکارسازی چندشکلی در این جمعیت‌ها سودمندی بیشتری دارند. با وجود این، بر اساس سطح چندشکلی آشکارشده توسط نشانگرهای ISSR که بیشتر از آغازگرهای RAPD است، می‌توان نتیجه گرفت که هر دو سیستم نشانگری در مطالعه تنوع ژنتیکی این آفت بلوط کارآمد هستند.



شکل ۳- تعیین تعداد بهینه K یا تعداد گروه‌ها براساس نتایج تجزیه ساختار در نرم‌افزار Structure



شکل ٤- تجزیه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های پروانه جوانه‌خوار بلوط بر اساس مدل بیزین حاصل از داده‌های ISSR و RAPD

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

جدول ٦- مقایسه شاخص‌های مختلف چندشکلی و تنوع ژنی سیستم‌های نشانگری ISSR و RAPD در ١٦ جمعیت *Tortrix viridana*

پارامتر	ISSRs	RAPDs
تعداد کل نوار تکثیرشده	١٢٧	١٠٥
تعداد نوار چندشکل	١٢١	٩٩
درصد نوارهای چندشکل	٩٣/٨	٩٤/٧
میانگین تعداد نوار در هر آغازگر	١٢/٧	١٣/١
میانگین تعداد نوار چندشکل در هر آغازگر	١٢/١	١٢/٣
شاخص اطلاعات شانون	٠/٢٦	٠/٣٠
هتروزیگوسیتی کل	٠/١٧	٠/٢٠
ضریب تمایز ژنتیکی (G_{ST})	٠/٢٦	٠/١٨
جریان ژنی	٠/٤٦١	٠/٥٢٧
محتوای اطلاعات چندشکلی	٠/٤٠	٠/٢٨

بحث

راه‌کارهای مؤثر برای کنترل آفات بر درک سیستماتیک پویایی جمعیت هر آفت مبتنی است. هر چه درباره چگونگی سازگاری جمعیت‌های آفات به یک یا انواع میزبان‌های اختصاصی خود بدانیم، به طراحی موفق‌تر و مؤثرتر راه‌کارهای مدیریتی مبارزه با آن افت با حداقل تخریب نظام اکولوژیکی یک سیستم که آفت نیز جزو آن است، نزدیک‌تر خواهیم شد (Bhau et al. 2014). به‌طور سنتی، از ویژگی‌های ریختاری و فنوتیپی برای ارزیابی تنوع در جمعیت‌های آفت و جانوران استفاده شده است. از آنجا که این مشخصه‌ها اغلب توسط چند ژن کنترل و تحت تأثیر محیط و تغییرات آن هستند، لذا تغییرات بین ژنوتیپ‌ها بر اساس این صفات تغییراتی واقعی و قابل‌اعتماد نیستند (Falconer 1986). بنابراین، ارزیابی تنوع ژنتیکی یکی از محورهای کلیدی برای توسعه هر استراتژی در راستای کنترل آفات است. این مهم به‌دلایل مختلفی از جمله پی‌بردن به میزان جریان ژنی و دوری و نزدیکی ژنتیکی بین جمعیت‌های مختلف کلیدی است (Nagaraju and Singh 1997). انتخاب نوع سیستم نشانگر می‌تواند تأثیر مهمی بر آنالیز و برهم‌کنش و ارتباط داده‌های به‌دست آمده داشته باشد. با توجه به این نکته‌های مهم، این مطالعه با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف پروانه جوانه‌خوار بلوط در بخش‌هایی از جنگل‌های زاگرس شمالی انجام گرفت.

آگاهی از پراکنش تنوع ژنتیکی درجمعیت آفات به شناخت بهتر خصوصیات رفتاری و زیست‌شناسی آن‌ها کمک می‌کند (Loxdale et al. 1993). یکی از راه‌هایی که به خوبی امکان مشخص کردن تنوع جمعیتی و وجود زیرگونه‌های احتمالی را مشخص می‌کند استفاده از نشانگرهای مولکولی است (Ardeh 2008). مطالعات جمعیت یک موجود زنده، پیش نیاز تعریف برنامه‌های بعدی برای کنترل مؤثر آن است. در مطالعات ساختار جمعیت سعی بر این است که با بررسی جنبه‌هایی مانند صفات ریخت‌شناسی، مشخصه‌های آنزیمی و یا ماده وراثتی، اختلاف‌های موجود بین جمعیت‌های درون گونه که ترجیح پایه و اساس ژنتیکی دارند، مشخص شوند. نتایج چنین مطالعاتی می‌تواند اطلاعات مفیدی را در زمینه عکس‌العمل‌های احتمالی موجود زنده درمقابل روش‌های کنترل مختلف ارائه دهد. مطالعه تاکسونومیک در سطح گونه به‌طور عمده شامل مقایسه جمعیت‌ها یا به‌عبارت صحیح‌تر مقایسه نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های مختلف است و براساس چنین مقایسه‌هایی است که تصمیم‌گیری‌های مهم تاگزونومیک انجام می‌شود (Hamrick and Godt 1996). مطالعات اکولوژیکی انجام‌گرفته بر حشرات اطلاعات کاربردی و مفیدی را درباره ساختار ژنتیکی، جریان ژنی و تنوع ژنتیکی ناشی از برهم‌کنش آن‌ها با فاکتورهای محیطی زنده یا غیرزنده بدست می‌دهد (Jain et al. 2009). نشانگرهای ISSR و RAPD استفاده شده در این مطالعه هر دو نشان دادند که جمعیت‌های مورد مطالعه به‌لحاظ ژنتیکی متفاوت و متمایز از هم نیستند. این یافته با ماهیت رفتاری حرکتی لارو آفت پروانه جوانه‌خوار بلوط هم‌خوانی دارد، به‌طوری‌که از ظرفیت جابجایی و نقل مکان محدودی برخوردار است. اگرچه پروانه‌های بالغ بال کارکردی دارند اما الگوی جابجایی در مسافت‌های طولانی ندارند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

علاوه بر این، بلوط به‌عنوان میزبان اختصاصی این آفت نیز عامل دیگری است که باعث می‌شود آفت تمایلی به جابجایی در مسافت‌های طولانی نداشته باشد. تجزیه AMOVA نشان داد که تقریباً نیمی از تنوع ژنتیکی مشاهده‌شده ناشی از تنوع داخل جمعیت‌هاست. این وضعیت نشان می‌دهد که این آفت به‌دلیل محدودیت در جابجایی و پخش‌شدگی دارای جمعیت‌های لکه‌ای است. گونه‌های آفات قادرند جمعیت‌های لکه‌ای بزرگی تشکیل دهند و تنوع ژنتیکی را برای سازگاری حفظ کنند، که این یکی از استراتژی‌های اکولوژیکی موفق برای آفات است (Yadav et al. 2017).

دو سیستم نشانگری مبتنی بر DNAی مورد استفاده در این مطالعه یعنی روش توالی‌های تکراری ساده میانی یا ISSR و روش DNAی چندشکل تصادفی تکثیریافته یا RAPD (Williams et al. 1990) نوعی انگشت‌نگاری DNA هستند که در آن‌ها طیف وسیعی از قطعات از الگوی DNA کل ژنومی تولید می‌شود. تکرارپذیری قطعات تکثیرشده در هر دو روش به اثبات رسیده است (Weeden et al. 1992) و نتایج حاصل از این روش‌ها تا حدود زیادی با یافته‌ها و نتایج به‌دست آمده از روش RFLP همخوانی دارد (Thormann and Osborn 1992). از روش RAPD برای ارزیابی چندشکلی ژنتیکی در آفیدها (Black et al. 1992) بر روی سه تا پنج ژنوتیپ در هر جمعیت استفاده شده است. Kambhampati et al. (1992) نشان دادند که نشانگرهای RAPD به تعداد کافی چندشکلی را برای تمایز بین جمعیت‌ها و گونه‌ها آشکار می‌کنند. در اندازه‌های بزرگ‌تر جمعیت‌ها، نشانگرهای RAPD را می‌توان برای بررسی ساختار ژنتیکی و همچنین بررسی سازوکار حفظ تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها به کار گرفت (Skinner and Camacho 1995). در این مطالعه نیز هر دوی نشانگرهای ISSR و RAPD با آشکارسازی سطح کافی از چندشکلی ژنوتیپ‌ها و همچنین جمعیت‌های این آفت را از هم متمایز کنند، به‌طوریکه نشانگرهای ISSR در مجموع ۱۲۱ نوار چندشکل و نشانگرهای RAPD نیز ۹۹ نوار چندشکل را تکثیر کردند، که برای سودمندی یک نشانگر که بایستی حداقل ۵۰ نوار چندشکل برای برآوردی دقیق از فواصل ژنتیکی تکثیر کند، کافی است (Nei 1978). با هدف کنترل بیولوژیکی این آفت، در مطالعه Feritas et al. (2017) بر مقایسه تنوع ژنتیکی جمعیت‌هایی از پروانه آفت *Cotesia flavipes*، وجود چندشکلی در میان شش جمعیت مورد مطالعه برای چهار لوکوس از پنج لوکوس ریزماهواره‌ای گزارش شده است.

همچنین تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)، که از آن به‌منظور کمی‌سازی سطح تنوع درون و بین جمعیت‌ها استفاده می‌شود (Feritas et al. 2017)، نشان داد که بخش بیشتر (بیشتر از ۷۰ درصد) تنوع ژنتیکی آشکارشده از داده‌های حاصل از هر دوی آغازگرهای ISSR و RAPD ناشی از تنوع درون جمعیت‌هاست. به طور مشابه، در مطالعه Feritas et al. (2017) بر تنوع ژنتیکی پروانه آفت *C. flavipes* بیشتربودن تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های آفت (۷۵ درصد) نسبت به تنوع ژنتیکی بین‌جمعیت‌ها (۲۵ درصد) گزارش شده است. تمایز بین جمعیت‌ها بر اساس شاخص برآورد شده از هر دو سیستم نشانگری مورد استفاده ملایم بود. در مطالعه بر روی *C. flavipes* نیز به‌طور مشابه تمایز ملایمی بین شش جمعیت مورد مطالعه مشاهده شده است (Feritas et al. 2017). نرخ جریان ژنی بین جمعیت‌ها بر اساس نشانگرهای ISSR ۰/٤٦١ و بر اساس نشانگرهای RAPD ۰/۵۲۷ برآورد شد که با ضعیف‌بودن سطح تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه هموخانی دارد. به‌طور مشابه، در مطالعه بر روی آفت *Cosmopolites sordidus* نویسندگان گزارش پایین‌بودن نرخ جریان ژنی برآورد شده را دلیل اصلی عدم تمایز قوی ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه می‌دانند (Yadav et al. 2017).

سهم و نسبت لوکوس‌های چندشکل معیار خوبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی نیست (Nei 1987). معیار و شاخص مناسب‌تر برای این هدف میانگین هتروزیگوسیتی یا تنوع ژنی (h) است. مقادیر بالاتر هتروزیگوسیتی نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی وسیع‌تر هستند (Nei 1987)، به‌طوریکه در این مطالعه تنوع ژنی در جمعیت نچی و باغان بیشترین و این نشان‌دهنده هتروزیگوسیتی بالاتر در این جمعیت‌ها است (جدول ۳). در مطالعه‌ای که بر روی یک جمعیت حساس و یک جمعیت مقاوم به آفت‌کش انجام شده بود، Janarthan et al.(2003) وجود یک باند اختصاصی را در جمعیت مقاوم به آفت‌کش شناسایی کردند. در مطالعه دیگری که بر روی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

آفت مکنده دیگری (*Helopeltis theivora*) انجام گرفته بود، بین دو جمعیت مورد مطالعه برای این آفت چندشکلی گزارش شده است (Roy et al. 2009).

استراتژی‌هایی که در حال حاضر برای کنترل پروانه جوانه‌خوار به‌کار گرفته می‌شوند اغلب بر اقدامات زراعی و استفاده از آفت‌کش‌ها مبتنی هستند. اقدامات زراعی همچون به‌دام‌انداختن سیستماتیک پروانه‌های بالغ، نیاز به نیروی کار بالا دارد و مقرون‌به‌صرفه نیستند. روش‌های کنترل بیولوژیکی مثل استفاده از عوامل بیولوژیکی مانند قارچ‌های پارازیت و نماتدهای پارازیت هنوز مرسوم نیستند. افزون بر این هزینه‌های آن‌ها و کارایی محدود آن‌ها، کاربرد آن‌ها را در مقیاس وسیع با محدودیت مواجه کرده‌اند. بدین‌ترتیب، در حال حاضر مبارزه با این آفت اغلب بر استفاده از سموم ارگانوفسفره مبتنی است. با وجود این، استفاده‌ی بی‌رویه از این آفت‌کش‌ها می‌تواند به ظهور و پیدایش نژادهای مقاوم به سم در این افت منجر شود (Collins et al. 1991). پتانسیل و توان یک آفت به تولیدمثل و استقرار خود در یک محیط جدید متکی است. بدین‌ترتیب، اطلاع از جریان و پراکنش ژنی در آفات برای درک فاکتورهای دخیل در تقویت یا محدودیت سازگاری‌های مکانی، تکامل مقاومت به سم در آفت و محدودیت در گسترش آن کاربردی و سودمند است (Roy et al. 2009). وجود اطلاعات معتبر درباره جریان ژنی (پخش‌شدگی و گسترش دامنه جغرافیایی حضور و فعالیت آفت) و ارتباط آن با اقدامات مدیریت کنترل آفت، فاکتورهای محیطی و اکوسیستم به‌عنوان کل، بسیار مهم است به‌طوری‌که می‌توان با این اطلاعات دوره‌های طغیان آفت را پیش‌بینی کرد (Byrne 1999). از آنجا که در این مطالعه نشان داده شد که دو سیستم نشانگری RAPD و AFLP هر دو برای مطالعه تنوع ژنتیکی در *T. viridana* کارامد هستند، از آن‌ها می‌توان برای پایش ساختار جمعیت‌ها که انعکاسی از سازگاری موضعی آن‌ها به محیط جدید است، استفاده کرد. میزان مهاجرت آفت نیز برای مدیریت یکپارچه آفت مهم است، به‌ویژه هنگامی که ژنوتیپ‌هایی از جمعیت‌ها حامل ژن‌هایی برای مقاومت به آفت‌کش‌ها باشند. افزون بر این، بهره‌گیری از سیستم‌های نشانگری در مطالعه تنوع ژنتیکی آفات می‌تواند به شناسایی نشانگرهایی اختصاصی برای آفات مقاوم و حساس منجر شود که خود می‌تواند در پایش منظم و برنامه‌وار جمعیت‌های آفت کاربردی باشد (Behura 2006).

این مطالعه نشان داد که دو سیستم نشانگری مبتنی بر تکثیر تکرارپذیر قطعاتی از DNA یعنی ISSR و RAPD برای مطالعه تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های *Tortrix viridana* در جنگل‌های زاگرس روش‌های کارآمدی هستند و چندشکلی کافی را آشکار کردند. اگرچه ۱۶ جمعیت انتخاب‌شده برای این مطالعه، به‌لحاظ جغرافیایی متفاوت بودند اما به‌لحاظ ژنتیکی به‌هم نزدیک هستند. یافته‌های مهم این مطالعه می‌تواند برای طراحی استراتژی‌های مناسب کنترل گسترش این آفت و مدیریت مقاومت به آفت‌کش‌های مورد استفاده از طریق شناسایی نوارهای منحصربفرد در ژنوتیپ‌های مقاوم کاربردی باشد.

منابع

Ardeh MJ (2008) Molecular markers and their application in the science of entomology. Iranian Plant Protection Research Institute 117 pp. (In Farsi).

Aylor DE, Irwin ME (1999) Aerial dispersal of pests and pathogens: implications for integrated pest management. Agricultural and Forest Meteorology 97:233-234.

Behdad A (1988) Pests and diseases of forest trees and shrubs of Iran. Neshat Esfahan Publish. 385 pp. (In Farsi).

Benecke M (1998) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) typing of necrophageous insects (diptera, coleoptera) in criminal forensic studies: validation and use in practice. Forensic Sci Int 98:157-168.

Bertin S, Guglielmino CR, Karam N, Gomulski LM, Malacrida AR, Gasperi G (2007) Diffusion of the Nearctic leafhopper Scaphoideus titanus Ball in Europe: a consequence of human trading activity. Genetica 131:275-285.

Bhau BS, Mech J, Borthakur S, Bhuyan M, Bhattacharyya PR (2014) Morphological and genetic diversity studies among populations of tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* from Assam, India. Molecular Biology Reports 41:7845–7856.

Black WC, DuTeau NM (1997) RAPD-PCR and SSCP analysis for insect population genetic studies. In: Crampton JM, Beard CB, Louis C (eds) Molecular biology of insect disease vectors: a methods manual. Chapman and Hall, New York, pp 361-373.

Black WC, Duteau NM, Puterka GJ, Nechols JR, Pettorini JM (1992) Use of random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) to detect DNA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

polymorphisms in aphids (Homoptera: Aphididae). Bulletin of Entomological Research 82:151-159.
Du Merle P (1999) Egg development and diapause: ecophysiological and genetic basis of phenological polymorphism and adaptation to varied hosts in the green oak tortrix, *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera: Tortricidae). J Insect Physiol 45:599-611.
Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131:479-491.
Falconer DS (1986 Introduction to Quantitative Genetics. Longman Press, London.
Fazeli M, Abaei M (1989) *Tortrix viridana* L. in Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province. Plant Pests and Diseases, 1:1-11. (In Farsi)
Freitas FC, Castro AC, Barbosa N (2017) Characterization and comparison of genetic variation in *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) mass reared for biological pest control using microsatellite markers. Neotropical Entomology 47:433-439.
Hamrick JL, Godt MJ (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species, Philosophical Transactions: Biological Sciences 351:1291-1298.
Hartmann G, Blank R (1992) Winterfrost, Kahlfraß und Prachtkäfer befall als Faktoren im Ursachenkomplex des Eichensterbens in Norddeutschland. Forst Holz 15:443-452.
Horstmann K (1984) Untersuchungen zum Massenwechsel des Eich-enwicklers, Tortrix viridana L. (Lepidoptera: Tortricidae), in Un-terfranken. Zeitschrift für Angewandte Entomologie 98:73-95.
Hunter MD (1990) Differential susceptibility to variable plant phenology and its role in competition between two insect herbivores on oak. Ecological Entomology 15:401-408.
Hunter MD, Varley GC, Gradwell GR (1997) Estimating the relative roles of top-down and bottom-up forces on insect herbivore populations: a classic study revisited. Proceedings of the National Academy of Sciences 94:9176-9181.
Ivashov AV, Boyko GE, Simchuk AP (2002) The role of host plant phenology in the development of the oak leaf roller moth, *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera: Tortricidae). Forest Ecology and Management 157:7-14.
Jain SK, Neekhra B, Pandey D, Jain K (2009) RAPD marker system in insect study: A review. Indian Journal of biotechnology: 9:7-12.
Jazirehi MH, Ebrahimi-Rastaghi M (2003) Silviculture in Zagros. Tehran University publications. (In Farsi).
Kambhampati S, Black WC, Rai KS (1992) RAPD of mosquito species and populations: Techniques, statistical analysis and applications. Journal of Medical Entomology 29:939-945.
Lewontin RC (1972) The apportionment of human diversity. Evolutionary Biology 6:381-398.
Loxdale HD, Edwards O, Tagu D, Vorburger C (2017) Population genetic issues: new insights using conventional molecular markers and genomics tools. Aphids as Crop Pests, 2nd edn. (eds. H. F. van Emden and R. Harrington). CABI, Wallingford, Oxford, U.K, pp. 50-80.
Marvi-Mohajer MR (2005) Silviculture. Tehran University publications. (In Farsi).
Nagaraju JG, Singh L (1997) Assessment of genetic diversity by DNA profiling and its significance in silkworm, *Bombyx mori*. Electrophoresis 18:1676–1681.
Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 70:3321-3323.
Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics: 89:583-590.
Peakall R, Smouse PE (2006) GenAlEx6: genetic analysis in excel population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6:288-295.
Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155:945-959.
Sabeti HA (1995) Forests, trees and shrubs of Iran. Yaz University publications. (In Farsi).
Schroeder H, Degen B (2008) Spatial genetic structure in populations of the green oak leaf roller, *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera, Tortricidae). Eur J Forest Res 127:447–453.
Schroeder H, Scholz F (2005) Identification of PCR-RFLP Haplotypes for Assessing Genetic Variation in the Green Oak Leaf Roller *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera, Tortricidae). Silvae Genetica 54:17-24.
Schroeder H, Yanbaev Y, Degen B (2010) A Very Small and Isolated Population of the Green Oak Leaf Roller, *Tortrix viridana* L., with High Genetic Diversity—How Does This Work?. Journal of Heredity 101:780-78.
Simchuk AP, Ivashov AV, Companiytsev VA (1999) Genetic patterns as possible factors causing population cycles in oak leaf roller moth, *Tortrix viridana* L. For Ecol Manage 113:35-49.
Skinner DZ, Camacho RF (1995) Genetic diversity within a potato leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) population infest-ing alfalfa. Journal of Kansas Entomological Society 68:35-42.
Thormann CE, Osborn TC (1992) Use of RAPD and RFLP markers for germplasm evaluation. In Applications of RAPD Technology to Plant Breeding, 9-11. Joint Publication of Crop Science Society of America, American Society of Horticultural Science, American Genetics Association.
Wang X, Messing RH (2003) Intra- and interspecific competition by *Fopius arisanus* and *Diachasmimorpha tryoni* (hymenoptera: Braconidae), parasitoids of tephritid fruit flies. Biological Control 27:251-259.
Weeden NF, Timmerman GM, Hemmat M, Kneen BE, Lodhi MA (1992) Inheritance and reliability of RAPD markers. In Applications of RAPD Technology to Plant Breeding, 12–17. Joint Publication of Crop Science Society of America, American Society of Horticultural Science, American Genetics Association.
Wharton RA, Trostle MK, Messing RH, Copeland RS, Kimani-Njogu SW, Lux S, Overholt WA, Mohamed S, Sivinski J (2000) Parasitoids of medfly, ceratitis capitata, and related tephritids in kenyan coffee: a predominantly

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]

Yadav S, Singh J, Padmanaban B, Kumar LS (2017) Genetic variability in Indian populations of banana corm weevil [*Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae)] assessed by RAPDs and AFLPs. International Journal of Tropical Insect Science 37:149-162.

koinobiont assemblage. Bulletin of Entomological Research 90:517-526.

Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18:6531-6535.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.2.1.4]