بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های بادام زمینی به روش الکتروفورز SDS-PAGE

سید مصطفی صادقی*[۱]، فاطمه جاوید[۲]، ناصر محمدیان روشن[۳]

۱*و ۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، باشگاه پژوهشگران جوان، رشت، ایران، صندوق پستی: ۳۵۱۶-۴۱۳۳۵

smsadeghi55@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های بادام زمینی در دو شرایط تنش خشکی و نرمال رطوبتی به روش مولکولی و با استفاده از الکتروفورز ژل اکریل آمید، آزمایشی در سال ۱۳۹۰ در دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد لاهیجان انجام شد. در این آزمایش تنوع ژنوتیپ‌ها بر اساس پروتئین ذخیره‌ای کل دانه بررسی شد. از میان روش‌های الکتروفورز غلظت ۱۰ و ۵ درصد اکریل آمید به ترتیب برای ژل‌های اصلی و پایه و غلظت ۵۰ میلی‌لیتر بافر استخراج عصاره پروتئین و ۵ میکرولیتر تزریق نمونه در چاهک، ۱۲۰ آمپر و دوساعت رنگ آمیزی مناسب‌ترین تلفیق برای بدست آوردن نوارهای واضح و جداگانه پروتئین تشخیص داده شد. نتایج الکتروفورز پروتئین‌ها ۸ – ۱۲ عدد نوار را را روی ژل آشکار ساخت که نوارهای با وزن مولکولی بالا و واضح برای مطالعه در نظر گرفته شدند. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر پایه ارزیابی کیفی نوارها، که چند شکلی نشان دادند آن‌ها را به سه گروه در شرایط تنش خشکی و چهار گروه در شرایط نرمال رطوبتی تقسیم کرد، با این حال در هر دو شرایط تنش خشکی و نرمال رطوبتی ۲ گروه منومورفیسم و ۶ گروه پلی مورفیسم مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: الکتروفورز، بادام زمینی، تنوع ژنتیکی، تجزیه کلاستر، ژنوتیپ.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بادام زمینی *Arachis hypogaea* از زیر تیره بقولات است و گیاهی ست یکساله که یکی از مهم‌ترین دانه‌های روغنی به شمار می‌آید که به خاطر دانه‌های غنی از روغن و پروتئین آن کشت می‌شود (۱). علیرغم تنوع بالا در ژرم پلاسم بادام زمینی، این تنوع به اندازه کافی در برنامه‌های اصلاحی بادام زمینی مورد استفاده قرار نگرفته است این موضوع شاید به علت عدم وجود اطلاعات کافی در مورد صفات مورفولوژیکی و مولکولی بادام زمینی باشد (۴) بنابراین برای بهره‌برداری از تنوع موجود در ژرم پلاسم بادام زمینی، ارزیابی صفات مولکولی آن علاوه بر صفات مورفولوژیکی و زراعی ضروری است. تنوع ژنتیکی اساس اصلاح نباتات است که از تکامل طبیعی ناشی شده و از اجزای مهم پایداری نظام‌های بیولوژیکی می‌باشد. امروزه با گسترش روش‌های نوین تجزیه و تحلیل ژنتیکی، که در آن‌ها مستقیماً از ماده ژنتیکی DNA استفاده می‌شود، پژوهش‌های بسیار ارزشمندی در زمینه‌های گوناگون از جمله ارتباطات فیلوژنتیکی و تکامل، چگونگی روند زراعی شدن گیاهان و بررسی تنوع ژنتیکی، تعیین نقشه‌های پیوستگی و ارائه نشانگرهای پیوسته با ژن‌های مقاومت به آفات و بیماری‌ها و سرانجام تعیین مکان‌های ژنی مربوط به صفات کمی به انجام رسیده یا در حال انجام است. با این وجود استفاده از الکترفورز پروتئین ذخیره دانه به منظور تعیین و طبقه‌بندی پلی پپتیدهای تشکیل دهنده مولکول‌های پروتئین‌ها و شناسایی چند شکلی آن‌ها در میان ژرم پلاسم موجود از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از طرفی تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی از عوامل مهم محدود کننده تولید محصولات گیاهی هستند و یکی از اهداف مهم اصلاح نباتات بهبود تحمل گیاهان به تنش‌ها و بالا بردن عملکرد می‌باشد. یک روش برای درک توانایی گیاهان در تحمل تنش‌های محیطی، بررسی و شناسایی تغییراتی است که در اثر تنش در سطوح پروتئین‌های خاص حاصل می‌شود و بررسی الگوی نواربندی ژنوتیپ‌ها در شرایط عادی و تنش نشان دهنده این است که آیا الگوی پروتئینی ژنوتیپ‌ها در تیمارهای مختلف و رفتار ژنوتیپ‌ها در پاسخ به تنش خشکی مشابه یا غیر مشابه است. Polignano و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی الگوی نوارهای الکتروفورزی پروتئین دانه در باقلا، تفاوت‌های بسیاری را در میان ژنوتیپ‌های گوناگون مشاهده نمودند. این پژوهشگران گزارش کردند که خالص سازی گلبولین برای پی بردن به تفاوت زیرواحدها لازم نمی‌باشد. زیرا این تفاوت‌ها در الگوی پروتئین‌های کلی دانه نیز مشهود است. Odeigh و همکاران (۲۰۰۰) با بررسی پروتئین کلی دانه و اجزای آلبومین و گلبولین در ۲۰ نمونه لوبیا چشم بلبلی، دو الگوی اصلی را برای پروتئین کلی تشخیص دادند که مربوط به زیر واحدهای ۲۹ و ۳۹ کیلودالتون بود و تنها در شش ژنوتیپ موجود بود این شش ژنوتیپ مقاوم به سوسک چند نقطه‌ای حبوبات بودند که این امر بر رابطه این نوارها و مقاومت نسبت به آفات دلالت دارد. علیپور و همکاران (۲۰۰۱) آزمایشی را به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۲۷۰ ژنوتیپ سویا، از نظر الگوهای الکتروفورتیک پروتئین دانه و ارتباط آن‌ها با برخی از ویژگی‌های دانه مانند درصد روغن، درصد پروتئین، برخی ترکیبات شیمیایی و وزن صد دانه انجام شد. Shunhu و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از روش الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین‌های ۶۴۰ رقم

Archive of SID

www.SID.ir

سویا را استخراج کرده و گزارش کردند که الگوی SDS-PAGE پروتئین‌های استخراجی سویا را به دو ناحیه تقسیم‌بندی کرده بود. نواحی باندها بین وزن مولکولی کمتر از ۴۴ کیلودالتون و بزرگتر یا مساوی ۴۴ کیلودالتون بودند ناحیه اول که بیشترین مقدار پروتئین را دارا بود به چهار زیر واحد تقسیم شده بود و ناحیه دوم به ۶ زیر واحد تقسیم شده بود. آن‌ها نتیجه گرفتند که پتانسیل خوبی برای تنوع ژنتیکی و محتوای پروتئین وجود دارد که اصلاحگران برای بهبود کیفیت پروتئین از آن استفاده نمایند. Javaid و همکاران (۲۰۰۴) ۱۵۱رقم بادام زمینی را با روش الکتروفورز مورد ارزیابی قرار داده و پیشنهاد کردند که الکتروفورز SDS-PAGE روش موثر برای مقایسه رقم‌های مختلف سویا می‌باشد. از الکتروفورز SDS-PAGE به طور وسیعی برای تنوع پروتئین‌های گیاهان مختلف استفاده می‌کنند (Das و همکاران، ۱۹۹۵). این آزمایش در جهت دستیابی به چند هدف مهم انجام شدکه شامل، ارزیابی ژنوتیپ‌های بادام زمینی موجود در ژرم پلاسم بانک ژن گیاهی ملی ایران از نظر پروتئین‌های ذخیره دانه، بررسی و شناسایی تغییراتی که در اثر تنش در سطوح پروتئین‌های خاص حاصل می شود و بررسی الگوی نواربندی ژنوتیپ‌ها در شرایط عادی و تنش، به دست آوردن روش عملی مناسب برای مشاهده نوارهای واضح و مجزای پروتئینی بودند.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های بادام زمینی از ۱۸ ژنوتیپ تهیه شده از بانک ژن گیاهی ایران استفاده شد که پروتئین ذخیره‌ای کل آن‌ها پس از قرار گرفتن در دو شرایط جداگانه تنش خشکی و نرمال رطوبتی به روش الکتروفورز ژل اکریل آمید (SDS-PAGE) مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱: اسامی ژنوتیپ های مورد استفاده در آزمایش

ICGV01263	ICGV93269
ICGV03060	ICGV92040
ICGV91155	ICGV99235
ICGV93095	ICGV92267
ICGV95148	ICGV02312
ICGV93125	Goli
ICGV95052	ICGV00441
ICGV00351	ICGV96177
ICGV01260	ICGV92054

برای استخراج پروتئین، بذرها با ازت مایع منجمد و بلافاصله با هاونگ سائیده و پودر شدند، بافر استخراج از تریس ۰/۰۳ مولا + مرکاپتواتانول ۰/۰۱ مولار با pH=8 تهیه شد. سپس مقدار یک گرم از هر ژنوتیپ را در فالکون ریخته و مقدار ۲۵ میلی‌لیتر محلول استخراج به آن اضافه گردید. جهت ادغام بهتر بافر استخراج و پودر بادام زمینی، هر نمونه به مدت یک دقیقه ورتکس شد. سپس نمونه‌ها با دور ۱۱۰۰۰، دمای ۴ درجه و مدت زمان ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیده و عصاره‌ی بذرها از قسمت بالای فالکن‌ها جداسازی شد.

Archive of SID

www.SID.ir

پس از آن مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره با مقدار ۵۰ میکرولیتر Sample buffer (tris 0.5M , pH= 6.8, Glycerol, SDS10%, DTT, Bromophenol Blue, Distilled water) در اپندروف با یکدیگر مخلوط شد. این پروتئین‌های استخراج شده در دمای ۲۰- تا زمان استفاده قابلیت نگهداری داشتند. برای تهیه یک حجم ژل ۱۰٪ اکریل آمید مقدار ۱۸ میلی‌لیتر اکریل آمید به همراه ۱۵ میلی‌لیتر، Separating buffer، ۷۰ میکرولیتر APS، ۱۰۰ میکرولیتر TEMED با هم ترکیب با آب مقطر به حجم ۶۰ میلی‌لیتر رسید و در حد فاصل دو شیشه در دستگاه الکتروفورز تزریق شد. برای تهیه یک حجم ژل ۵٪ اکریل آمید که به ژل هماهنگ کننده نیز معروف است مقدار ۷/۵ میلی‌لیتر Stacking Gel، ۱۸ میلی‌لیتر آب مقطر، ۴/۵ میلی‌لیتر اکریل آمید، ۳۰ میکرولیتر TEMED و ۱۵۰ میکرولیتر APS با هم ترکیب در قسمت فوقانی ژل ۱۰٪ تزریق گردید و در نهایت عصاره‌ی پروتئین ژنوتیپ‌ها در داخل چاهک‌ها تزریق شد. به ازای هر ژل ۱۲۰ آمپر جریان ثابت استفاده گردید که با گذشت ۴ ساعت عصاره تزریق شده داخل چاهک از مبدا ژل به طرف انتهای ژل رسید. برای رنگ‌آمیزی هر ژل از ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول رنگ آمیزی حاوی کوماسی بلو، اسید استیک و اتانول استفاده شد. که ژل‌ها جهت رنگ‌آمیزی در ظرف حاوی محلول و روی شیکر با دور ۵۰ و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. به منظور رنگ زدایی ژل نیز از اتانول و اسید استیک استفاده شد، به این صورت که بلافاصله پس از خارج کردن ژل از محلول رنگ‌آمیزی، ۲ تا ۳ مرتبه با آب مقطر شسته و سپس در حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول رنگ زدایی قرار گرفت. رنگ زدایی به مدت ۵ ساعت و در دمای آزمایشگاه انجام شد.

به منظور گروهبندی و تجزیه خوشه‌ای بر اساس عدم حضور و حضور باندها کدهای صفر و یک در نظر گرفته شد و با استفاده از نرم افزار Darwin & mega3 ماتریس داده‌ها تشکیل و دندروگرام به روش UPGMA ترسیم گردید.

نتایج

از میان شرایط و روش‌های مختلف بررسی شده، غلظت‌های ۱۰ و ۵ درصد اکریل آمید به ترتیب برای ژل‌های اصلی و پایه، غلظت ۵۰ میلی لیتر بافر استخراج عصاره پروتئین و ۵ میکرولیتر تزریق نمونه در داخل چاهک‌های ژل ، ۱۲۰ آمپر و دو ساعت رنگ آمیزی، مناسب‌ترین تلفیق برای به دست آوردن نوارهای واضح و جداگانه پروتئینی می‌باشد. انتخاب ژل پایه با غلظت ۵ درصد و ژل اصلی با غلظت ۱۰ درصد باعث شد که ابعاد پروتئین با قطر منافذ ژل متناسب گردد و به خوبی در ژل اصلی حرکت کند و از هم جدا شوند. از آنجایی که مقدار پروتئین بادام زمینی زیاد می‌باشد، درهم رفتن نوارهای پروتئینی و کشیدگی آن‌ها در صفحه ژل در طی الکتروفورز تشدید می‌شود. انتخاب غلظت عصاره پروتئینی ۵۰ میلی‌لیتر و میزان نمونه تزریقی داخل چاهک‌های ژل (۵ میکرولیتر) از درهم رفتن نوارهای پروتئینی و کشیدگی آن‌ها جلوگیری نمود، امکان حصول نوارهای واضح و جداگانه را تا حدود زیادی فراهم ساخت. الکتروفورز پروتئین‌ها روی ۱۸ ژنوتیپ که در دو شرایط تنش خشکی و نرمال رطوبتی قرار گرفته بودند نوارهایی را روی ژل آشکار ساخت، شمار باندهای اصلی که قابل دیدن و واضح بودند ۹ تا ۱۲

Archive of SID

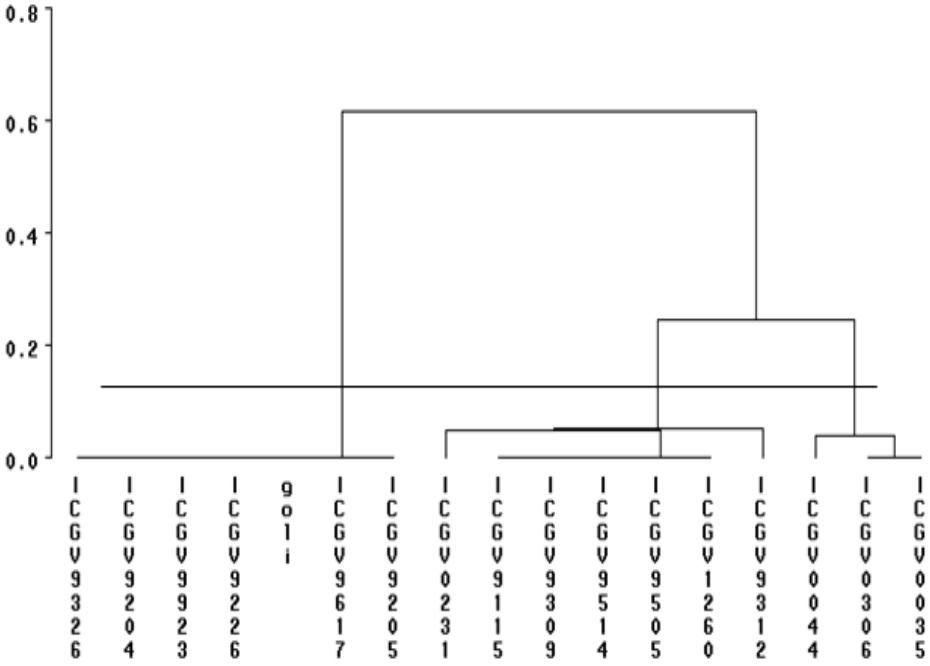
www.SID.ir

عدد متغییر بود و شمار کل آن‌ها به ۱۵ عدد می‌رسید. در بررسی‌های مولکولی نوارهای پروتئین کل بذر فقط نوارهای حاوی وزن مولکولی بالا و کاملا بارز مورد استفاده قرار گرفت. از مجموع ۹ نوار مورد مطالعه، نوارهای اول، سوم و ششم منومورفیسم بودند و نوار هشتم نیز پلی مورفیسم چندانی از خود نشان نداد. همچنین الکتروفورز ژنوتیپ‌ها در هر دو شرایط تنش خشکی و نرمال رطوبتی نشان داد که ۳ باند در تمام گونه‌ها مشترک و ۶ باند چند شکلی (پلی مورفیسم) داشتند (شکل ۴). در شرایط تنش خشکی از نظر نوارهای چهارم و پنجم تنها ارقام ICGV00441, ICGV0126, ICGV93125 باند شماره ۴ و ۵ را دارا بودند که فراوانی هر یک ۳.۵۷٪ یا حضور بود. در شرایط نرمال رطوبتی باند شماره ۴ دارای کمترین تعداد و با فراوانی ۶.۸۱٪ یا حضور بودند که از ۱۸ ژنوتیپ مورد بررسی این باندها تنها در ۵ ژنوتیپ ظهور پیدا کردند که عبارتند از: ICGV96177, ICGV92054, ICGV01263, ICGV03060, ICGV93095, ICGV95148، از آنجایی که فراوانی باند شماره‌ی ۴ در شرایط نرمال رطوبتی نسبت به شرایط تنش خشکی دو برابر ظهور یافته است، باند شماره‌ی ۴ در سه ژنوتیپ ICGV00441, ICGV0126, ICGV93125 در شرایط تنش ظاهر شده در حالی که در شرایط نرمال رطوبتی این باند در این سه ژنوتیپ ظهور نیافته است، از طرفی در شرایط نرمال رطوبتی باند شماره‌ی ۴ در پنج ژنوتیپ ICGV96177, ICGV92054, ICGV01263, ICGV03060, ICGV93095, ICGV95148 ظهور یافته در حالی که در شرایط تنش خشکی این باندها حضور ندارند و به نظر میرسد شرایط تنش از بیان برخی ژن‌ها در این پنج ژنوتیپ جلوگیری نموده است. از آنجایی که پروتئین‌ها فرآورده‌های ژنتیکی فعال و با ثبات هستند در نتیجه هر رقم با ژنوتیپ منحصر به فرد خود از نظر یک یا تعداد بیشتری پروتئین با بقیه فرق دارد (۲). ژنوتیپ‌هایی که پروتئین‌های آن‌ها از نظر بار خالص، وزن مولکولی و یا فعالیت آنزیمی با یکدیگر متفاوت‌اند از طریق الکتروفورز از هم قابل تمایز هستند (۸).

به منظور گروهبندی ارقام مورد مطالعه از لحاظ بررسی‌های مولکولی پروتئین ذخیره‌ای کل دانه از روش تجزیه کلاستر UPGMA (متوسط فاصله بین گروه‌ها) مبتنی بر معیار فاصله اقلیدوسی استفاده شد که برش دندروگرام برای ژل اول (ژنوتیپ‌های تحت تنش خشکی) ابتدا در فاصله ۲-۳ ژنوتیپ‌ها را به دو گروه اصلی که در یکی۱۰ و در دیگری ۸ ژنوتیپ قرار داشت تقسیم کرد، اما در نظر گرفتن فاصله استاندارد و محاسبه ماتریس بین و داخل گروهی موجب کاهش دامنه از فاصله ۳ به فاصله ۱/۷ گردید و در نتیجه ۱۷ ژنوتیپ مورد بررسی در سه گروه مجزا قرار گرفت (شکل ۱). کلاستر سوم کوچکترین کلاستر و شامل ۳ رقم، کلاستر اول و دوم شامل ۷ هرکدام شامل ۷ رقم بودند (جدول ۳).همچنین الکتروفورز ژنوتیپ‌هایی که تحت تنش خشکی بودند نشان داد که ۳ باند در تمام گونه‌ها مشترک و ۶ باند چند شکلی (پلی مورفیسم) داشتند (شکل ۲).

Archive of SID

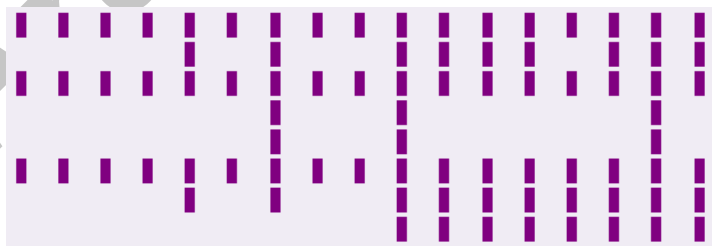
www.SID.ir



شکل ۱: دندروگرام ژنوتیپ های بادام زمینی تحت تنش خشکی در بررسی مولکولی

جدول ۳: تعداد ژنوتیپ‌های موجود در هر گروه

گروه	تعداد ژنوتیپ
۱	۷
۲	۷
۳	۳



شکل ۲: نمای شماتیک باندهای ظهور یافته در الکتروفورز ژنوتیپ‌های بادام زمینی تحت تنش خشکی

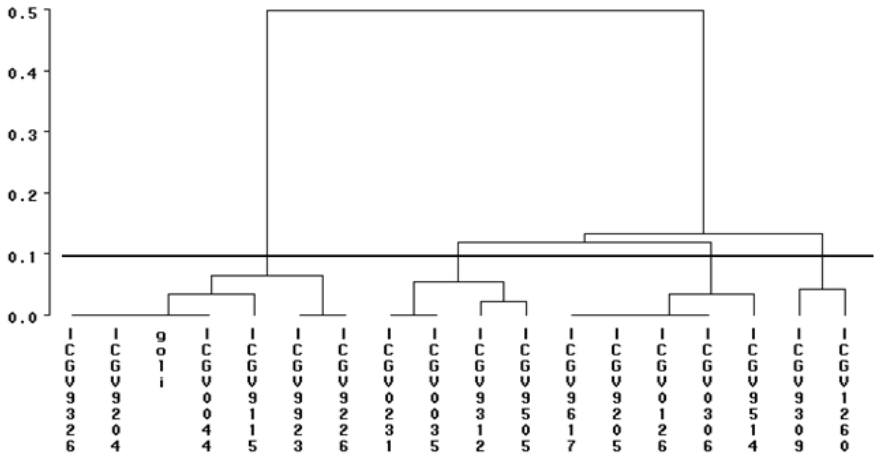
کلاستر اول شامل ۷ ژنوتیپ به نام‌های ICGV9326 , ICGV9204, ICGV9923, ICGV9226, ICGV9617, ICGV9205 , Goli بودند . کلاستر دوم نیز شامل ۷ ژنوتیپ به نام‌های ICGV0231, ICGV0126, ICGV9115, ICGV9309, ICGV9514, ICGV9505, ICGV9312 بودند و کلاستر سوم ۳ژنوتیپ به نام‌های ICGV00441, ICGV0306,

Archive of SID

www.SID.ir

ICGV0035 را شامل می‌شدند، که کمترین تنوع در کلاستر سوم مشاهده گردید.

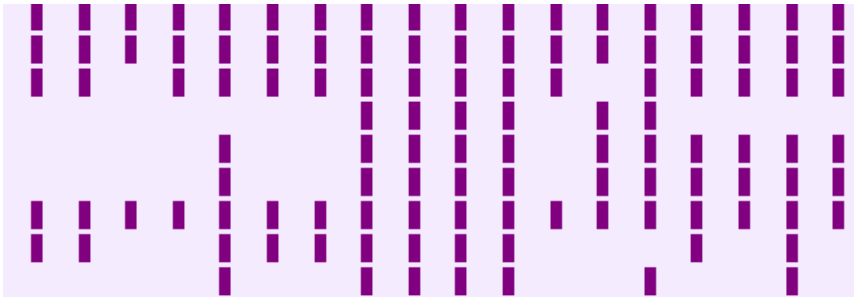
برش دندروگرام برای ژل دوم (ژنوتیپ‌های تحت شرایط نرمال رطوبتی) ابتدا در فاصله ۱/۵ ژنوتیپ‌ها را به دو گروه اصلی که در یکی۱۱ و در دیگری ۷ ژنوتیپ قرار داشت تقسیم کرد، اما در نظر گرفتن فاصله استاندارد و محاسبه ماتریس بین و داخل گروهی موجب کاهش دامنه از فاصله ۱/۵ به فاصله ۰/۹۹ گردید و در نتیجه ۱۸ ژنوتیپ مورد بررسی در چهار گروه مجزا قرار گرفت (شکل ۳). کلاستر چهارم کوچکترین کلاستر و شامل ۲ رقم، کلاستر اول ۷، کلاستر دوم ۴ و کلاستر سوم ۵ ژنوتیپ را در خود جای دادند (جدول ۴).



شکل ۳: دندروگرام ژنوتیپ‌های بادام زمینی تحت شرایط نرمال رطوبتی در بررسی مولکولی

جدول ۴: تعداد ژنوتیپ‌های موجود در هر گروه

گروه	تعداد ژنوتیپ
۱	۷
۲	۴
۳	۵
۴	۲



شکل ۴: نمای شماتیک باندهای ظهور یافته در الکتروفورز ژنوتیپ‌های بادام زمینی تحت شرایط نرمال رطوبتی

Archive
www.SID.ir

کلاستر اول شامل ۷ ژنوتیپ به نام‌های ICGV9326 , ICGV9204, ICGV9923, ICGV9226, ICGV9115, ICGV0044, Goli بودند. کلاستر دوم نیز شامل ۴ ژنوتیپ به نام‌های ICGV0231, ICGV0035, ICGV9312, ICGV9505, بودند، کلاستر سوم شامل ۵ ژنوتیپ به نام‌های ICGV9617, ICGV9205, ICGV0126, ICGV0306, ICGV9514 و کلاستر چهارم ۲ ژنوتیپ به نام‌های ICGV9309, ICGV1260 را شامل می‌شدند که کمترین تنوع در کلاستر چهارم ملاحظه شد.

بحث

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر دسته‌بندی آن‌ها در سه گروه در شرایط تنش خشکی و چهار گروه در شرایط نرمال رطوبتی دلالت دارد. با توجه به فاصله قابل توجه آن‌ها در میان گروه‌ها، می‌توان گفت که ژن‌های مربوط به نوارهای داخل هر گروه پیوستگی چشمگیری دارند که بجز در موارد اندک شکسته نمی‌شوند. از سوی دیگر گروه‌های مختلف فاصله زیادی را نشان دادند و ژن‌های مربوط به نوارهای پروتئینی آن‌ها در فاصله دورتری از یکدیگر قرار گرفته‌اند به طوری که نوترکیبی به راحتی میان آن‌ها اتفاق افتاده و ترکیب‌های متفاوتی را ایجاد می‌نمایند. مبنای ژنتیکی پروتئین‌های ذخیره‌ای یکی از دلایل گستردگی کاربرد این روش‌ها برای توصیف جوامع است اگرچه توصیف و شناسایی جوامع بر مبنای تفاوت‌های فنوتیپی الگوهای نواری الکتروفورز انجام می‌شود ولی این الگوها را می‌توان بر حسب مکان‌های ژنی و آلل‌ها تشریح کرد. مطالعات الکتروفورزی جوامع مختلف بر اساس پروتئین‌های غیر آنزیمی و عمدتاً پروتئین‌های ذخیره‌ای است. لذا الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید پروتئین‌های ذخیره می‌توان به عنوان قویترین سیستم شناسایی ارقام مشابه به شمار آورد (۹). با اینکه در این آزمایش فقط حضور و یا عدم حضور نوارها مورد بررسی قرار گرفت با این حال به خاطر وجود تفاوت قابل ملاحظه در شدت رنگ نوارها استفاده از دانسیتومتری هنوز تنوع بیشتری را در معرض نمایش می گذارد (۲). همچنین انتظار می‌رود در ادامه مطالعات و با استفاده از ژل‌های شیبدار و یا استخراج پروتئین‌های خاص بتوان به تنوع بیشتری دست یافت (۲). از آن‌جایی که همه تنوع موجود در سطح DNA و در سطح پروتئین‌ها قابل تشخیص نیستند و از طرفی نیز تغییرات انجام شده در آمینو اسیدهایی که در بار خالص الکتریکی پروتئین تغییری ایجاد نمی‌کنند نمود ایزوزیمی ندارد، به علاوه فقط یک دسته از ژن‌های ساختمانی دستور ساخت پروتئین را می‌دهند و این دسته ممکن است بیانگر وضعیت کلی ژنوم نباشند بنابراین لازم است تعداد ژنوتیپ‌های مورد بررسی را بیشتر در نظر گرفت تا امکان دست یابی به پلی مورفیسم بیشتر وجود داشته باشد. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که بکارگیری مکانیسم‌های متعدد در بررسی پلی مورفیسم درک بهتری را از ارتباط ژنومی ژنوتیپ‌ها در اختیار قرار می‌دهد. همچنین الکتروفورز پروتئین بذر طبق بررسی‌ها روش بسیار مطمئنی است (۷) و تصویر دقیق‌تری را از وضعیت ژنوم‌ها در اختیار قرار می‌دهد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی لاهیجان که هزینه‌های اجرای این تحقیق را فراهم نمود، کمال تشکر را داریم.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

۱. خواجه پور، م.ر.، ۱۳۸۳. گیاهان صنعتی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، ۲۸۸ صفحه

۲. عبدمیشانی، س. و شاه نجات بوشهری، ع.، ۱۳۷۷. اصلاح نباتات تکمیلی – جلد دوم. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۵۲ صفحه

۳. علیپور، ح.؛ میرمحمد میبدی، ع، و طاهری، س.ع.، ۱۳۸۰. بررسی تنوع ژنتیکی لاین های سویا با استفاده از روش الکتروفورز پروتئین دانه . مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ج ۵، شماره ۴ ، صفحه ۸۵-۹۴.

4. Badigannavar, A.M.; Kale, D.M. and Murty, G.S.S., 2002. Genetic base and diversity in groundnut genotypes. Plant Breeding 121:348-355.
5. Das, S. and Mukarjee, K.K., 1995. Comparative study on seed proteins of Ipomea. Seed Sci. Technol. 23: 501-509.
6. Javaid, A. Ghafoor, A and Rashid, A., 2004. Seed storage protein electrophoresis in groundnut for evaluating genetic diversity. Pak. J. Bot., 36(1): 25-29
7. Ladizinsky, G. and Hymowitz, T., 1979. Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies. Thcor Appl. Genet. 54: 145-157.
8. Nielsen, G. and Johanes, H.B., 1986. Proposal for the identification of barley varities based on the genotypes for 2 hordein and 39 isozyme loci of 47 reference varieties. Euphytica. 35:717-728.
9. Odeigh, P.G.C. and Osanyinpeju, A.O., 2000. Seed protein electrophoresis characterization of cowpea (vigna unguiculata). Genet. Resour. and Crop Evol. 43:458-491.
10. Polignano, N.; Splendido, G.B.R. and Uggenti, P., 2002. Protein Polymorphism among genotypes of faba bean from Afghanestan and Ethiopia. Fabis Newsletter 28:8-11.
11. Shunhu, L.; Zhou, R.; Tian, S. and Gai, J., 2007. A Study on Submit Groups of Soybean Protein Extracts and under SDS-PAGE. J Am oil Chem Soc. 84: 793-801.

Archive of SID

www.SID.ir