Archive of SID

زیست‌شناسی گیاهی، سال دوم، شماره ششم، زمستان ۱۳۸۹، صفحه ۱ - ۱۴
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۸/۱۶
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۸۹/۱۰/۰۸
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۸۹/۱۲/۰۳
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۸۹/۱۲/۱۷

کاربرد پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در مطالعه تنوع درون گونه‌ای سه جمعیت از پسته وحشی (*Pistacia atlantica* Desf.)

نسرین سیدی، سید غلامعلی جلالی [۱*]، محمد مقدم [۲]، مسعود طبری [۱] و سید ابوالقاسم محمدی [۲]
[۱] گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
[۲] گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

چکیده

پسته وحشی یکی از گونه‌های مهم منطقهٔ رویشی زاگرس محسوب می‌شود و خصوصیاتی چون مقاومت به خشکی، شوری و سرما باعث شده است که این گونه در مشجر کردن مناطق خشک و نیمه خشک و حفاظت آب و خاک نقش بسزایی داشته باشد. در این تحقیق، الگوی پروتئینی سه جمعیت پسته وحشی (*Pistacia atlantica* Desf.) برای تعیین تنوع بررسی گردید. به این منظور، پس از استخراج پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، غلظت پروتئین‌ها به روش Bradford تعیین گردید. سپس برای تفکیک پروتئین‌های استخراج شده از روش SDS-PAGE استفاده شد. به منظور تجزیه داده‌های الکتروفورزی به حضور و عدم حضور هر یک از باندها به ترتیب عدد یک و صفر داده شد. مجموع فاصله باندهای موجود در هر نمونه از مبدأ حرکت باندها از روی ژل نیز به عنوان یکی از مشخصات مورد مطالعه در نظر گرفته شد. ماتریس داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل خوشه‌ای گردید. تجزیه واریانس نشان داد که میانگین غلظت پروتئین جمعیت‌ها ۱۳/۰۸ درصد بوده، بین میزان پروتئین آنها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ وجود دارد. پروفیل پروتئین‌های ذخیره بذر پسته وحشی ۲۱ باند را تشکیل داد؛ به طوری که بیشترین تعداد باندها مربوط به جمعیت بانه و کمترین تعداد مربوط به جمعیت سلماس بود. هرچند دندروگرام حاصل اگرچه قادر به جداسازی کامل جمعیت‌ها از یکدیگر نشد، ولی تا حدودی توانست سه جمعیت را از یکدیگر تفکیک کند.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، پسته وحشی، میزان پروتئین

مقدمه

گونه بنه (*Pistacia atlantica* Desf.) از جنس پسته (*Pistacia*) و خانواده Anacardiaceae، پس از گونه‌های مختلف بلوط در منطقه‌ی رویشی زاگرس، مهمترین گونه برخوردار از محصولات اصلی و فرعی با ارزش محسوب می‌شود (غلامی و همکاران، ۱۳۸۶). این گونه درختچه‌ای، دو پایه و خزان‌کننده است (Kafkas and Perl-Treves, 2001) و خصوصیاتی چون مقاومت به خشکی، شوری و

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: gholamalij@yahoo.com، شماره تماس: ۰۹۱۱۱۲۷۶۴۱۱

www.SID.ir

Archive of SID

سرما موجب شده است که از پسته وحشی در مشجر کردن مناطق خشک و نیمه خشک، حفاظت خاک و بیابان‌زدایی استفاده شود (مداح عارفی و همکاران، ۱۳۸۳). همچنین، این گیاه چند منظوره بوده، علاوه بر استفاده از چوب آن برای سوخت، مصارف صنعتی و ساختمانی، کاربردهای دارویی و خوراکی متعددی نیز دارد (میرزایی ندوشن و مداح عارفی، ۱۳۷۸؛ زاهدی پور و همکاران، ۱۳۸۴). از جمله کاربردهای دارویی آن می‌توان به اثر روغن گرفته شده از بذر بنه بر کاهش چربی خون (از نوع LDL) اشاره کرد (صائب و همکاران ۱۳۸۴ و ۱۳۸۶). صرف‌نظر از مطالب گفته شده، این گونه در برخی نقاط کشور آثار اقتصادی- معیشتی نیز داشته است. مجموعه گزارش‌های موجود در خصوص پسته وحشی، حاکی از آن است که رویشگاه‌های بسیار گسترده آن در ایران به علل گوناگون مختلف تخریب شده و مجموعه حیات گیاهی و جانوری در این رویشگاه‌ها و زیستگاه‌ها در معرض تهدید است (طهماسبی، ۱۳۷۹ و زاهدی پور، ۱۳۸۰). از این رو، شناخت کافی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف پسته وحشی می‌تواند در جهت توسعه و ترمیم رویشگاه‌های این گونه مفید باشد. امروزه از روش‌های مختلفی برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده می‌شود؛ از جمله آن‌ها می‌توان روش الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر از طریق SDS-PAGE را نام برد. با توجه به تأثیرپذیری کمتر این پروتئین‌ها از عوامل محیطی، نتایج به دست آمده از این روش‌ها در مطالعه تنوع ژنتیکی اعتباری بیش از مشاهدات مورفولوژیک دارد (اسدی و همکاران، ۱۳۸۹). بنابراین، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر می‌توانند در شناسایی گونه‌ها و روابط فیلوژنتیک بین آنها مفید باشند (Iqbal *et al*., 2005; Javid *et al*., 2004).

همچنین با استفاده از باندهای پروتئینی ایجاد شده، می‌توان تفاوت بین رویشگاه‌های مختلف یک گونه را بررسی کرد (Asghar *et al*., 2003; Ehsanpour *et al*., 2010). در عین حال، بیشتر تحقیقات مربوط به پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به گونه‌های زراعی و یا علوفه‌ای که به نوعی تأمین‌کنندهٔ غذای انسان و دام هستند، مربوط می‌شود (Bau *et al*., 2001; Valizadeh, 2001; Teuber *et al*., 2002 Panigrahi *et al*., 2007) و در خصوص گونه‌های درختی اطلاعات کمتری وجود دارد (شریعت و همکاران، ۱۳۸۰؛ میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۸). در مورد جنس پسته اغلب مطالعات انجام شده در رابطه با الکتروفورز پروتئین‌های پوست و جوانه بوده است (Golan-Goldhirsh, 1995; Golan- Goldhirsh and Shachak, 1998; Golan- Goldhirsh *et al*., 1998; Golan-Goldhirsh, 1998a and 1998b; Peri *et al*., 1999) و از میان گونه‌های این جنس تاکنون مطالعات اندکی در خصوص الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر فقط بر روی پسته باغی (*Pistacia vera* L.) صورت گرفته است (Ehsanpour *et al*., 2010) و بر اساس اطلاعات حاصل، در زمینه تنوع ژنتیکی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر با استفاده از روش‌هایی مانند SDS-PAGE برای گونهٔ *Pistacia atlantica* Desf. مطالعه‌ای صورت نگرفته است. لذا، هدف از این تحقیق استفاده از پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر برای مطالعه تنوع در جمعیت‌های گونه پسته وحشی بود. پیش‌بینی می‌گردد، علی‌رغم در معرض خطر بودن این گونه ارزشمند، هنوز هم تنوع ژنتیکی کافی برای احیا، توسعه و ترمیم رویشگاه‌های آن وجود دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

در این تحقیق سه جمعیت از گونهٔ *Pistacia atlantica* Desf. از نظر میزان و الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مطالعه شدند. میوه رسیده در اوایل پاییز ۸۷، از شمال غرب و جنوب شرق استان آذربایجان غربی و همچنین شمال غرب استان کردستان جمع‌آوری شد (جدول ۱). جمع‌آوری بذر در هر جمعیت به طور تصادفی از ۲۰ پایه مادری انجام گرفت که این پایه‌ها به منظور اجتناب از خویشاوندی، ۱۰۰ متر با یکدیگر فاصله داشتند (Ginwal *et al.*, 2005). یکی از صفات مورد بررسی وزن بذر بود و به این منظور وزن هزار دانه بذر بنه، برای هر پایه درخت مادری، بر حسب گرم، با ترازو اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و اقلیمی جمعیت‌های مورد مطالعه

جمعیت	۱	۲	۳
نام	سلماس	شاهین‌دژ	بانه
استان	آذربایجان‌غربی	آذربایجان‌غربی	کردستان
عرض جغرافیایی	N۰۶° ۳۸	N۰۴° ۳۶	N۳۰° ۳۶
طول جغرافیایی	E۳۵° ۴۴	E۴۰° ۴۵	E۴۲° ۴۶
ارتفاع (m)	۱۹۰۰	۱۳۱۰	۱۷۰۰
بارندگی سالانه (mm)	۲۳۱/۷۵	۷۰۸	۲۸۱/۷
متوسط دما (min-max°C)	۱۵/۳-۵	۱۸/۶-۸/۶	۱۷/۷۶-۲/۷
متوسط رطوبت نسبی (%)	۵۷	۴۴	۵۴

استخراج پروتئین

الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، به روش SDS-PAGE با استفاده از ژل اکریل آمید انجام شد. به منظور استخراج پروتئین، ابتدا پوسته بذر جدا و ۰/۳ گرم محتویات بذر رسیده و خشک از هر ژنوتیپ به طور جداگانه، در هاون چینی و به کمک ازت مایع ساییده و پودر شدند. سپس ۲-۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (۲/۹۴ گرم گلیسین، ۵/۶ گرم تریس، ۱۰ میلی‌لیتر گلیسیرین، آب مقطر، اسیدیته ۸/۳ و حجم نهایی محلول ۱۱۰ میلی‌لیتر) به تدریج و هنگام ساییدن اضافه شد. عصاره حاصل ۲ بار و با ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ گردید. به علت روغنی بودن بذر این گونه، لایه‌ای از روغن در بالا قرار گرفت که برداشته شد و محلول زیرین پس از سانتریفیوژ مجدد تا زمان مصرف در فریزر نگهداری شد (میرزایی‌ندوشن و همکاران، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۴).

اندازه‌گیری میزان پروتئین

به علت تفاوت در میزان پروتئین ژنوتیپ‌های مختلف، سنجش کمی پروتئین‌ها به روش Bradford انجام شد. برای این منظور، از کیت‌های آماده شرکت Biorad با شماره کاتالوگ ۰۲۰۵-۵۰۰ استفاده گردید. از سرم آلبومین گاوی در هفت غلظت ۲۰۰۰، ۱۵۰۰، ۱۰۰۰، ۷۵۰، ۵۰۰،

www.SID.ir

Archive of SID

۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر به عنوان پروتئین استاندارد استفاده شد. برای دستگاه اسپکتروفتومتر، طول موج ۵۹۵ نانومتر تعریف شد. سپس توسط نمونه صفر (شاهد) که تنها حاوی محلول Bradford بود، دستگاه صفر و کالیبره گردید. سپس محلول‌های پروتئین استاندارد در دستگاه قرار داده شدند و میزان جذب نور نمایش داده شده به وسیله دستگاه، برای هر نمونه استاندارد ثبت شد. به همین ترتیب، جذب نوری نمونه‌های پروتئین‌های استخراج شده در دستگاه خوانده شد. با استفاده از غلظت پروتئین‌های معلوم، خط رگرسیون ترسیم گردید و منحنی استاندارد با رسم مقادیر خوانده شده توسط دستگاه در مقابل غلظت‌های معلوم آنها رسم گردید. سپس معنی‌دار بودن ضریب رگرسیون و عرض از مبدأ این خط آزمون گردید. پس از مشخص شدن معادله نهایی خط، غلظت پروتئین در نمونه‌های مورد بررسی تعیین شد.

الکتروفورز پروتئین

ابتدا ۳۰ میکرولیتر عصاره پروتئین با ۳۰ میکرولیتر بافر نمونه (حاوی SDS و بتامرکاپتواتانول) مخلوط شد و هر یک از نمونه‌ها در حمام آب جوش به مدت سه دقیقه قرار گرفتند و بلافاصله روی یخ قرار داده شدند. چون درصد پروتئین در نمونه‌های مختلف، متفاوت بود،عصاره پروتئینی حاصل بر اساس داده‌های سنجش پروتئین، استفاده شد؛ به طوری که از هر نمونه به تناسب تراکم پروتئین‌ها در عصاره‌های استخراج شده، بین ۱۰ تا ۲۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی حرارت دیده، برای بارگیری روی ژل آکریل آمید و انجام الکتروفورز، در محل چاهک‌ها تزریق شد. غلظت پروتئین بارگیری شده در هر چاهک ۰/۵ میکروگرم در میکرولیتر بود. به منظور تعیین وزن مولکولی پروتئین‌ها، یک نشانگر برخوردار از پروتئین‌های با وزن مولکولی مشخص در اولین چاهک بارگیری شد. شدت جریان مورد استفاده در آزمایش ۶۰ میلی‌آمپر و ولتاژ ثابت ۷۰-۸۰ ولت بود. پس از رسیدن سطح رنگ به انتهای ژل، جریان برق قطع و ژل از دستگاه خارج شد. سپس برای ظاهرسازی باندهای پروتئینی ابتدا ژل در تشتک حاوی Trichloro Acetic Acid، روی همزن با دور متوسط به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و پس از شستشو با آب مقطر، ژل به مدت یک شب در محلول رنگی کوماسی بلو قرار گرفت و در پایان، برای وضوح باندهای پروتئینی، رنگ‌زدایی ژل (۳۵۰ ml متانول، ۷۵ ml استیک اسید گلاسیال، ۵۷۵ ml آب مقطر) انجام شد.

این باندها پس از عکس‌برداری مطالعه شدند (میرزایی‌ندوشن و همکاران، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۴). برای انجام الکتروفورز از هر جمعیت ۱۰ ژنوتیپ با ۵ تکرار بررسی گردید.

تجزیه آماری داده‌ها

با در نظر گرفتن کدهای ۱ و ۰ برای وجود و عدم باندهای پروتئینی، یک ماتریس از این اعداد حاصل گردید. همچنین، فاصله هر یک از باندها از ابتدای ژل (cm) و مجموع فواصل باندهای هر ژنوتیپ نیز تعیین و به ماتریس عددی موجود اضافه شد. با استفاده از ماتریس حاصل، تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و نیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام شد. همچنین، جمعیت‌ها از نظر وزن دانه و

www.SID.ir

Archive of SID

میزان پروتئین، به کمک تجزیه واریانس و آزمون دانکن مقایسه شدند. برای تجزیه‌های آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به غلظت پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر و وزن هزار دانه تفاوت معنی‌داری را بین سه جمعیت از گونهٔ *Pistacia atlantica* Desf. برای این صفات نشان داد. نتایج مقایسه میانگین جمعیت‌ها با استفاده از آزمون دانکن در جدول ۲ آورده شده است. میانگین‌های مربوط به غلظت پروتئین در نمونه‌های هر جمعیت با جمعیت دیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشتند. در مورد وزن هزار دانه نیز دو جمعیت بانه و شاهین‌دژ با جمعیت سلماس اختلاف معنی‌دار نشان داد، در صورتی که بین این دو جمعیت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. با توجه به جدول ۲ بیشترین غلظت پروتئین متعلق به بذور جمعیت بانه بود. این جمعیت از بیشترین وزن دانه نیز برخوردار شد. در عین حال، بر خلاف انتظار، در کل، همبستگی زیادی بین وزن دانه و غلظت پروتئین دیده نشد (R^2=۰/۱۸).

جدول ۲- میانگین غلظت پروتئین و وزن دانه در سه جمعیت از *Pistacia atlantica*

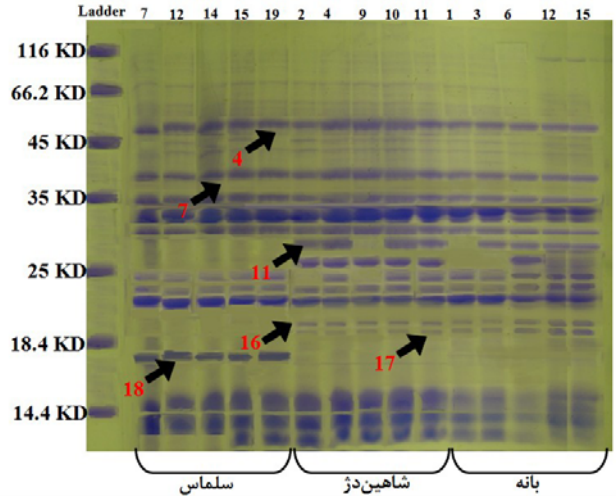
	غلظت پروتئین (میکرو گرم) در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره			وزن هزار دانه (گرم)		
جمعیت	دامنه تغییرات	میانگین	انحراف معیار	دامنه تغییرات	میانگین	انحراف معیار
سلماس	۸/۴۳–۱۳/۶۸	۱۱/۶۷ c	۱/۸۰۴	۵۹–۹۹/۶	۸۴/۳ b	۱/۱۸
شاهین‌دژ	۱۰/۲۸–۱۴/۱۲	۱۲/۹۴ b	۱/۱۰۱	۱۱۲/۴–۱۶۵/۸	۱۴۴/۸ a	۱/۶۷
بانه	۱۱/۱۴–۱۵/۶	۱۳/۶۹ a	۰/۹۷۵	۸۹–۲۳۱/۴	۱۵۲/۸ a	۴/۳۵

در هرستون میانگین‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

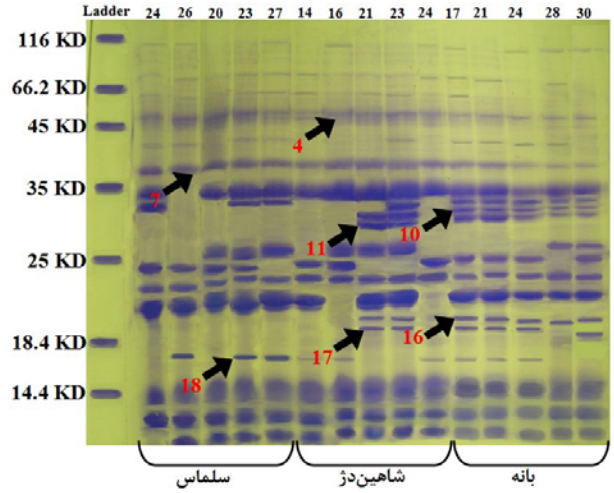
طی عمل الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، در مجموع برای سه جمعیت مورد مطالعه که شامل ۳۰ ژنوتیپ بودند، ۲۱ باند پروتئینی ظاهر گردید. برای مقایسه بهتر، ۳۰ ژنوتیپ مورد بررسی به دو گروه ۱۵ تایی تقسیم گردید که به طور مجزا در شکل‌های ۱ و ۲ آورده شده‌اند. در قسمت فوقانی این شکل‌ها شماره ژنوتیپ مربوط به هر لاین ثبت گردید. همچنین با علامت پیکان شماره تعدادی از باندها نیز در شکل‌ها مشخص شده‌است. بیشترین تعداد باندها به جمعیت بانه (با میانگین ۱۹/۶) و کمترین تعداد به جمعیت سلماس (با میانگین ۱۳/۷۱) مربوط بود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- پروفیل پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر پسته وحشی در گروه ۱۵ تایی اول



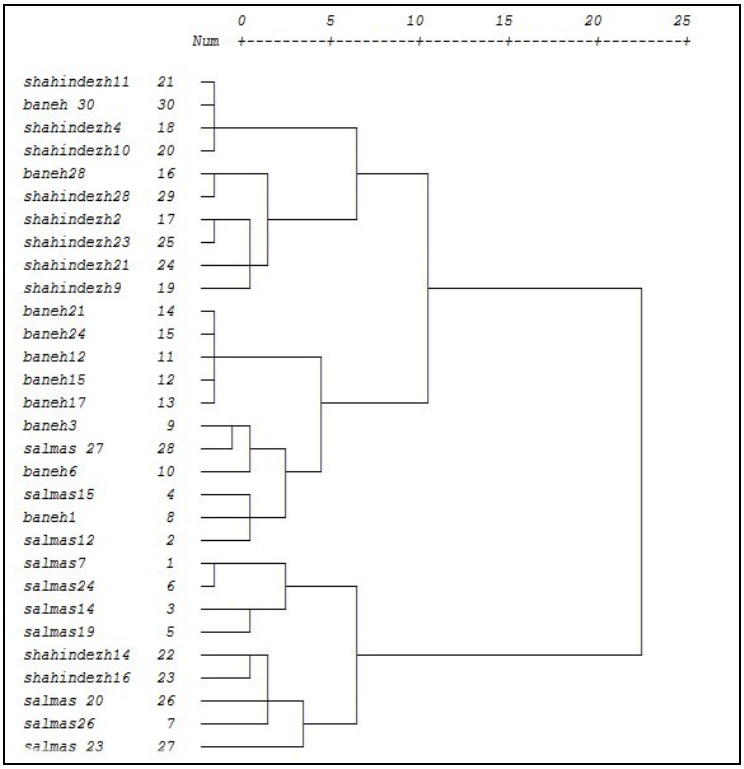
شکل ۲- پروفیل پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر پسته وحشی در گروه ۱۵ تایی دوم

باندهای ظاهر شده در محدوده وزن مولکولی زیر ۱۱۶ کیلودالتون (KD) بودند. بیشترین تعداد باندها در محدوده پروتئین‌های با وزن مولکولی بین ۱۸/۴ تا ۳۵ کیلودالتون و کمترین تعداد در محدوده پروتئین‌های با وزن مولکولی بین ۳۵ تا ۱۱۶ کیلودالتون قرار داشتند. همچنین تعدادی از باندها در محدوده پروتئین‌های با وزن مولکولی زیر ۱۴/۴ KD مشاهده شدند. در عین حال، چون کمترین وزن پروتئین‌های موجود در نشانگر مورد استفاده ۱۴/۴ KD بود، لذا حد پایینی وزن مولکولی پروتئین‌های این باندها تعیین نشد. با اینکه میزان پروتئین‌های بار شده به درون کلیه چاهک‌ها یکسان بود، باندها از لحاظ تراکم و شدت اختلاف نشان دادند. باندهای ضخیم‌تر دارای مقدار بیشتری از رشته‌های پپتیدی در آن محل هستند. هرچند باندهای پروتئینی مشترک زیادی در داخل این گونه وجود داشت، ولی باندهای اختصاصی هر جمعیت نیز مشاهده شد. باندهای شماره ۴، ۷، ۱۹ و ۲۰ در همه ژنوتیپ‌های سه جمعیت مشاهده شد. باندهای شماره ۵ و ۱۰ در تعدادی از ژنوتیپ‌های جمعیت سلماس و شاهین‌دژ وجود نداشتند، در

www.SID.ir

Archive of SID

حالی که همین باندها به وضوح در کلیه ژنوتیپ‌های جمعیت بانه قابل رؤیت بودند. باندهای شماره ۱۱، ۱۶ و ۱۷ در کلیه ژنوتیپ‌های مربوط به جمعیت سلماس غایب بودند، در صورتی که همین باندها در کلیه ژنوتیپ‌های جمعیت بانه و اغلب ژنوتیپ‌های جمعیت شاهین‌دژ دیده شدند. در نهایت، باند شماره ۱۸ فقط در تعداد محدودی از ژنوتیپ‌های جمعیت سلماس به وضوح دیده شد، ولی در سایر جمعیت‌ها یا مشاهده نشد و یا بسیار ضعیف ظاهر گردید. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای (شکل ۳) ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم کرد؛ به طوری که گروه اول شامل ژنوتیپ ۱۶ و ۱۴ از جمعیت شاهین‌دژ و ژنوتیپ‌های ۲۳، ۲۶، ۲۰، ۱۹، ۱۴، ۲۴ و ۷ از جمعیت سلماس، گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های ۱، ۶، ۳، ۱۷، ۱۵، ۱۲، ۲۴، ۲۱ از جمعیت بانه و ژنوتیپ‌های ۱۲، ۱۵ و۲۷ از جمعیت سلماس و گروه سوم در برگیرنده ژنوتیپ‌های ۹، ۲۱، ۲۳، ۲، ۲۸، ۱۰، ۴ و ۱۱ از جمعیت شاهین‌دژ و ژنوتیپ‌های ۲۸ و ۳۰ از جمعیت بانه بود. بر اساس این دندروگرام تقریباً دسته سوم به جمعیت شاهین‌دژ، دسته دوم به جمعیت بانه و دسته اول به جمعیت سلماس تعلق داشتند. در واقع، می‌توان گفت این دندروگرام تا حدودی جمعیت‌های مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم کرد.



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر سه جمعیت پسته وحشی

نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در جدول ۳ آمده است. مؤلفه اول ۴۳ درصد واریانس تجمعی را به خود اختصاص داد، در حالی که مؤلفه‌های دوم، سوم و چهارم به ترتیب ۱۶، ۱۱ و ۸ درصد واریانس را شامل شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

در تشکیل مؤلفه اول در مرتبه اول باندهای ۱۶ و ۱۷ و در مراتب بعدی باندهای ۱۰ و ۱۱ از اهمیت بیشتری برخوردار بودند. این موضوع نشان می‌دهد که این باندها، به ویژه باندهای ۱۶ و ۱۷ با محدوده وزنی ۱۸/۴ تا ۲۵ کیلودالتون، بیشترین نقش را در گروه‌بندی جمعیت‌ها ایفا کردند. باندهای ۴، ۷، ۱۴، ۱۹ و ۲۰ که در همهٔ ژنوتیپ‌ها مشترک بودند، نقشی در گروه‌بندی نداشتند.

جدول ۳ - ضرایب مربوط به مؤلفه اصلی اول در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در خصوص باندهای پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر پسته وحشی

باند	۱	۲	۳	۵	۶	۸	۹	۱۰
مؤلفه اول	۰/۷۰۷	۰/۷۴۶	۰/۶۶۱	۰/۷۰۴	۰/۱۹۳	۰/۴۴۷	۰/۷۸۲	۰/۷۸۲
باند	۱۱	۱۲	۱۳	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۲۱
مؤلفه اول	۰/۷۴۷	۰/۴۳۸	-۰/۳۹۷	۰/۵۴۶	۰/۸۹۳	۰/۸۱۸	-۰/۴۷۸	۰/۱۸۳

بحث

بر اساس نتایج حاصل، جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر غلظت پروتئین دارای اختلاف معنی‌داری بودند. بنابراین، میزان پروتئین می‌تواند در جداسازی این سه جمعیت از یکدیگر استفاده شود. خیامی و همکاران (۱۳۸۴) نیز توانایی درصد پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر را در جداسازی چند رقم کانولا گزارش کردند. بیشترین غلظت پروتئین مربوط به جمعیت بانه بود. هر چند که این جمعیت از بیشترین وزن دانه نیز برخوردار بود و انتظار می‌رفت که غلظت پروتئین بذر با وزن آن در ارتباط باشد، ولی ضریب همبستگی پایین بین این دو متغیر (R^2=۰/۱۸) فرض مورد نظر را رد کرد. در ارتباط با الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، در این تحقیق ۲۱ باند در سه جمعیت مورد مطالعه از یکدیگر تفکیک شدند که بیشتر آن‌ها در محدوده وزنی ۱۸/۴ تا ۳۵ کیلودالتون قرار داشتند. در مطالعه‌ای که توسط Ehsanpour و همکاران (۲۰۱۰) روی *Pistacia vera* L. انجام شد، اغلب باندهای پروتئینی در محدوده وزنی ۱۸/۴ تا ۴۵ کیلودالتون قرار گرفتند. لذا می‌توان گفت که وزن مولکولی بیشتر پروتئین‌های ذخیره‌ای موجود در جنس پسته در حدود ۱۸/۴ تا ۴۵ کیلودالتون است. اختلاف بین نتایج به دست آمده در این تحقیق و نتایج Ehsanpour و همکاران (۲۰۱۰) می‌تواند از تفاوت بین دو گونه مذکور سرچشمه گرفته باشد. همچنین، در مطالعات انجام شده در رابطه با پروتئین‌های جوانه و گل جنس پسته، بیشتر باندهای پروتئینی مشاهده شده در محدوده وزن مولکولی ۲۰ تا ۶۵ کیلودالتون بودند و گفته شده است که پروتئین‌های با وزن مولکولی ۳۲ کیلودالتون در تمام گونه‌های جنس پسته وجود دارد که در تحقیق حاضر نیز باند پروتئینی با وزن مولکولی ۳۲ کیلودالتون مشاهده شد. همچنین، در همهٔ مطالعات انجام گرفته پروتئین با وزن مولکولی بیشتر از ۱۱۶ کیلودالتون گزارش نشده است که این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (Golan- Goldhirsh, 1995; Golan- Goldhirsh and Shachak, 1998; Golan-

www.SID.ir

Archive of SID

Goldhirsh *et al*., 1998; Golan- Goldhirsh, 1998a and 1998b; Peri *et al*., 1999).

پروتئین‌ها به عنوان محصولات مستقیم ژن‌ها، نشانگرهای مناسبی در ارزیابی تنوع ژنتیکی محسوب می‌شوند (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۰). در خصوص گیاهان چوبی و غیرچوبی، مطالعه الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر بیشتر برای تفکیک گونه‌ها، ارقام و کولتیوارها صورت گرفته است (اسپهبدی، ۱۳۸۴). Ehsanpour و همکاران (۲۰۱۰) با استفاده از این روش توانستند چهار رقم از پسته خوراکی (*Pistacia vera* L.) را از هم جدا کنند. در این مطالعه هرچند تکنیک الکتروفورز قادر به جداسازی کامل جمعیت‌ها از یکدیگر نشد، ولی بیشتر افراد یک جمعیت در کنار همدیگر قرار گرفتند. از طرف دیگر، نتایج خوبی در زمینه وزن مولکولی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گونهٔ *Pistacia atlantica* Desf. به دست آمد. این نتایج از آن جهت اهمیت دارد که در زمینه الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گونه مورد بررسی، تاکنون گزارشی منتشر نشده است. در این تحقیق،باندهای انحصاری برای تفکیک جمعیت‌های مختلف *Pistacia atlantica* Desf. شناسایی شدند. باندهای شماره ۱۱، ۱۶ و ۱۷ مختص جمعیت‌های بانه و شاهین‌دژ، باندهای شماره ۵ و ۱۰ مختص جمعیت بانه و باند شماره ۱۸ مختص جمعیت سلماس بود. از این رو، می‌توان از این باندها در تفکیک جمعیت‌های این گونه از یکدیگر استفاده نمود. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز تأثیر باندهای فوق را در گروه‌بندی جمعیت‌ها تأیید کرد؛ به طوری که باندهای شماره ۱۶ و ۱۷ که در جمعیت سلماس دیده نشدند، بیشترین نقش را در گروه‌بندی داشتند و احتمالاً به علت عدم ظهور این دو باند در ژنوتیپ‌های جمعیت سلماس، تجزیه خوشه‌ای اغلب ژنوتیپ‌های این جمعیت را در خوشه‌ای جدا از دو جمعیت دیگر قرار داد. این باندها در محدوده وزن ۱۸/۴ تا ۲۵ کیلودالتون قرار داشتند. بنابراین می‌توان گفت که جمعیت سلماس در این محدودهٔ وزنی با دو جمعیت دیگر تفاوت دارد و شاید همین تفاوت، علتی برای غلظت کمتر پروتئین در این جمعیت نسبت به دو جمعیت دیگر باشد. همچنین با اینکه باند شماره ۱۸ فقط به جمعیت سلماس اختصاص داشت، ولی بر اساس نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، این باند نقش مؤثری در گروه‌بندی پایه‌ها نداشت. تجزیه خوشه‌ای تقریباً اغلب ژنوتیپ‌های مربوط به هر جمعیت را در یک گروه مجزا جای داد. این موضوع حاکی از آن است که واریانس درون جمعیتی زیادی بین ژنوتیپ‌های هر جمعیت وجود ندارد و به عبارت دیگر،تنوع درون جمعیتی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در این گونه از تنوع بین جمعیتی آن کمتر است.

جمع‌بندی

در این تحقیق، تفکیک جمعیت‌های مختلف از یکدیگر نسبی بود؛ به طوری که برخی از ژنوتیپ‌های سه جمعیت مختلف در مجاور یکدیگر در یک زیردسته قرار گرفتند. اختلاف بین جمعیت‌ها را می‌توان تا حدودی به فواصل جغرافیایی جمعیت‌های مورد مطالعه ربط داد، ولی این تمایز کامل نیست. به همین علت، استفاده از سایر روش‌های مولکولی برای تفکیک بهتر جمعیت‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی

شایسته است که بدینوسیله از مسؤولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور که امکانات مورد نیاز در اجرای این تحقیق را در اختیار نگارندگان گذاشتند، صمیمانه قدردانی شود. کمک‌های جناب آقای دکتر حسین میرزایی ندوشن و سرکار خانم فرشته اسدی کرم در کلیه مراحل اجرای تحقیق چشمگیر بوده است که بر این اساس مراتب سپاسگزاری از این همکاران محترم اعلام می‌گردد.

منابع

اسپهبدی، ک. (۱۳۸۴) بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین اثرات ژنوتیپ و محیط بر روند استقرار و رشد نهال بارانک. پایان‌نامه دکتری، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.

اسدی کرم، ف.، میرزایی ندوشن، ح.، امام، م. و بخشی خانیکی، غ. ل. (۱۳۸۹) تنوع در پروفیل پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در دو گونه از گز روغنی (*M. oleifera* و *Moringa peregrine*) دوفصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، در دست چاپ.

خیامی، م.، حیدری، ر. و ریگازاده، ط. (۱۳۸۴) رده‌بندی چند رقم کانولا بر مبنای پروتئین کل و ذخیره و اسیدهای چرب دانه. مجله علوم کشارزی ایران ۳۶(۵): ۱۲۱۴- ۱۲۰۷.

زاهدی پور، ح. (۱۳۸۰) گزارش نهایی بررسی عوامل مؤثر در پراکنش پسته وحشی در استان مرکزی. گزارش داخلی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی.

زاهدی پور، ح.، فتاحی، م.، میرداودی اخوان، ح. ر.، گودرزی، غ. و آزدو، ض. (۱۳۸۴) بررسی پراکنش گونه‌های مختلف پسته وحشی در استان مرکزی. فصلنامه پژوهشی جنگل و صنوبر ایران ۱۳(۱): ۷۸-۳۵.

شریعت، آ.، میرزایی ندوشن، ح.، قمری زارع، ع. و سنگتراش، م .ح. (۱۳۸۰) مطالعه الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای در گونه‌هایی از یونجه یک‌ساله. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۸: ۶۷-۸۰.

صائب، م.، نظیفی، س. و یاوری، م. (۱۳۸۴) بررسی تأثیر روغن پسته وحشی (بنه) بر چربی‌ها و لیپوپروتئین‌های سرم خون خرگوش‌های نر. مجله طبیب شرق ۷(۱): ۸-۱.

صائب، م.، نظیفی، س.، بیضایی، آ.، قیصری، ر. و جلالی، ج. (۱۳۸۶) بررسی اثر مصرف خوراکی روغن پسته وحشی (بنه) بر میزان لپتین و هورمون‌های تیروئید موش صحرایی نر. مجله غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران ۹(۴): ۴۳۷- ۴۲۹.

طهماسبی، م. (۱۳۷۹) گزارش نهایی بررسی عوامل مؤثر در پراکنش پسته وحشی در استان ایلام. گزارش داخلی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام.

غلامی، ش.، حسینی، س. م. و صیاد، ا. (۱۳۸۶) اثر وجین، عمق و زمان کاشت بذر روی رشد نهال‌های بنه در نهالستان. مجله پژوهش و سازندگی ۷۵: ۸۰- ۷۱.

مداح عارفی، ح.، نصیرزاده، ع. و میرزایی ندوشن، ح. (۱۳۸۳) بررسی تنوع در پایه‌های مادری و پدری بنه (*Pistacia atlantica*). مجله تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۰: ۴۱۹-۴۰۵.

www.SID.ir

Archive of SID

میرزایی ندوشن، ح. و مداح عارفی، ح. (۱۳۷۸) تنوع ژنتیکی درصد پوکی بذر در درختان بنه (*Pistacia atlantica*). مجله پژوهش و سازندگی ۴۲: ۱۰۱-۱۰۰.

میرزایی ندوشن، ح.، اسدی کرم، ف.، امام، م.، بخشی خانیکی، غ. ر.، کنشلو، ه. و آچاک، ی. (۱۳۸۸) توانمندی ژنتیکی در القاء کالوس و رشد جنین نارس در جمعیت‌هایی از گز روغنی (*Moringa peregrine*). تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۷: ۳۷-۲۹.

میرزایی ندوشن، ح.، دهقان شعار، م. و اسدی کرم، ف. (۱۳۸۴) استفاده از الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره ای بذر در ارزیابی تنوع ژنتیکی و شناسایی جمعیت‌ها و گونه‌هایی از .*Bromus* spp. فصلنامه ثبت ارقام گیاهی و گواهی بذر و نهال ۱: ۲۲-۱۴.

میرزایی ندوشن، ح.، شریعت، آ. و اسدی کرم، ف. (۱۳۸۰) الکتروفورز گونه‌هایی از تاغ، تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۷: ۱۱۷-۹۹.

Asghar, R., Siddique, T. and Afzal, M. (2003) Inter and intra-specific variation in SDS PAGE electrophoregrams of total seed protein in chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm. Pakistan Journal of Biological Sciences 6(24): 1991-1995.

Bau, S. M. T., Mazzafera, P. and Santoro, L. G. (2001) Seed storage proteins in coffee. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal. 13 (1): 33-40.

Ehsanpour, A. A., Shojaie, B. and Rostami, F. (2010) Characterization of seed storage protein patterns of four Iranian Pistachio using SDS-PAGE. Natural Science 2 (7): 737-740.

Ginwal, H. S., Phartyal, S. S., Rawat, P. S. and Srivastava, R. L. (2005). Seed source variation in morphology, germination and seedling growth of *Jatropha curcas* L. in Central India. Silvae Genetica 54 2: 76-80.

Golan-Goldhirsh, A. (1995) Proteins associated with reproductive male bud development in pistachio. Acta Horticulturae 419: 19-25.

Golan-Goldhirsh, A. (1998a) Developmental proteins of *Pistacia vera* L. Bark and bud proteins and their biotechnological properties. Journal of Food Biochemistry 22 (5):375-382.

Golan-Goldhirsh, A. (1998b) Seasonal changes in dehydrin-like proteins and proteases of *P. vera* inflorescence bud. Acta Horticulturae 470: 359-364.

Golan-Goldhirsh, A. and Shachak, A. (1998) Immunological cross-reaction between bud and bark proteins of dormant deciduous trees. Scientia Horticulturae 73:165-173.

Golan-Goldhirsh, A., Peri, I., Birk, Y. and Smirnoff, P. (1998) Inflorescence bud proteins of *Pistacia vera*. Trees 12:415–419.

Iqbal, S. H., Ghafoor, A. and Ayub, N. (2005) Relationship between SDS-PAGE markers and Ascochyta blight in chickpea. Pakistan Journal of Botany 37(1): 87-96.

Javid, A., Ghafoor, A. and Anwar, R. (2004) Seed storage protein electrophoresis in groundnut for evaluating genetic diversity. Pakistan Journal of Botany 36(1): 25-29.

Kafkas, S. and Perl-Treves, R. (2001) Morphological and molecular phylogeny of *Pistacia* species in Turkey. Theoretical and Applied Genetics 102: 908-915.

Panigrahi, J., Kumar, D. R., Mishra, M., Mishra, R. P. and Jena, P. (2007) Genomic relationships among 11 species in the genus *Cajanus* as revealed by seed protein (albumin and globulin) polymorphisms. Plant Biotechnology 1: 109-116.

Peri, I., Matusova, R., Smirnoff, P., Birk, Y. and Golan-Goidhirsh, A. (1999) Inflorescence bud protease(s) against dehydrin-like inflorescence bud proteins of *Pistacia vera*. Plant Physiology and Biochemistry 37 (1): 51-56.

Teuber, S. S., Sathe, S. K., Peterson, W. R. and Roux, K. H. (2002) Characterization of the Soluble Allergenic Proteins of Cashew Nut

www.SID.ir

Archive of SID

(*Anacardium occidentale* L.). Journal of Agriculture and Food Chemistry 50: 6543-6549.

Valizadeh, M. (2001) Seed storage protein profile of grain legumes grown in Iran, using SDS-PAGE. Journal of Agriculture Science and Technology 3: 287-292.

www.SID.ir

Archive of SID

Application of seed storage protein in intra-specific variation in three population of *Pistacia atlantica* Desf.

Nasrin Seyedi, Seyed Gholam Ali Jalali [1]*, Mohammad Moghaddam [2], Masoud Tabari [1] and Seyed Abolghasem Mohammadi [2]

[1] Department of Forestry, Faculty of Natural Recourses and Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor
[2] Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz

Abstract

Wild Pistachio is one of the most important trees in Zagros forests. The resistance of *P. atlantica* to drought, salinity and cold makes this species suitable for reforestation in arid and semiarid zones and also for water and soil conservation. In this research, protein pattern of three populations of *P. atlantica* Desf. was studied. After extraction of seed storage proteins, concentration of proteins was identified by Bradford method and banding pattern of the populations was determined by SDS-PAGE technique. Average protein concentration of populations was 13.08 percent. Based on the analysis of variance, significant differences were observed among populations for protein percentage. In order to analysis electrophoresis data, presence and absence of the protein bands were scored as one and zero, respectively. Furthermore, the total distances of the bands of each genotype from the beginning point on the gel were summed to get the cumulative distances as a characteristic of each profile. Cluster analysis was performed on the data matrix using SPSS software. Twenty one protein bands were observed in the studied populations. Baneh population showed the highest number of protein bands while Salmas population showed the lowest number. Although the cluster analysis was not able to separate the populations completely it could partly locate the three populations in different groups.

Key words: Electrophoresis, Seed storage proteins, Wild Pistachio, Protein content

* Correspong Author: gholamalij@yahoo.com

www.SID.ir