

ارزیابی تنوع ژنتیکی نمدار (*Tilia sp.*) با استفاده از الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر

حامد یوسف‌زاده^۱، اباصلت حسین‌زاده کلاگر^{۲*}، مسعود طبری^۳، علی ستاریان^۴ و مصطفی اسدی^۵

۱- کارشناس ارشد جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۲* - نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر

پست الکترونیکی: ahcolagar@umz.zc.ir

۳- دانشیار، جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۴- استادیار، جنگل‌داری، مجتمع علوم کشاورزی و منابع طبیعی گنبد

۵- استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۷/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۲۶

چکیده

با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی نمدار (*Tilia sp.*) در جنگل هیرکانی، پروتئین‌های بذر از پنج جمعیت شامل: دلیر، چمستان، بندین، ولیک‌بن و لوه به روش سدیم دو دسیل سولفات- پلی‌آکریلامید ژل الکتروفورز (SDS-PAGE) مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین همسویی الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، با تنوع ریختی میوه با استفاده از آنالیز تشخیص بررسی شد. به این منظور سه تیپ میوه شامل میوه‌هایی با سطح خارجی واجد کرک‌های حنایی رنگ، واجد برجستگی‌های برآمده و بدون برجستگی انتخاب شدند. وجود تنوع درون جمعیتی، به‌ویژه در جمعیت لوه از منطقه شرق جنگل هیرکانی، احتمالاً بدلیل عدم تبادل ژنی با جمعیت مجاور است. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوی باندی ژل الکتروفورزی بذر، به وضوح توانست سه تیپ ریختی میوه را از یکدیگر تفکیک نماید. براساس این تحقیق، هر یک از تیپ‌های فوق، نه تنها دارای الگوی باندی متفاوتی از پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در ژل الکتروفورزی می‌باشند بلکه یک همسویی بین این الگو با تیپ‌های ریختی میوه وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: نمدار، الکتروفورز پروتئین بذر، ریخت‌شناسی میوه، جنگل‌های هیرکانی.

مقدمه

امتداد سواحل جنوبی دریای مازندران، به‌عنوان یکی از مهمترین ذخیره‌گاه‌های گیاهی زیست‌کره گردید. قابلیت بسیار بالای چوب گونه نمدار (*Tilia sp.*) در صنایع دستی و مصارف مختلف صنعتی و همچنین سرشاخه‌زنی آن جهت تغذیه دام، سبب کاهش سهم پنج درصدی آن در سال ۱۳۷۴، به یک درصد در سال ۱۳۸۱ شد

تأثیرپذیری اندک از عصر یخبندان (دوره پلیستوسن)، تنوع و غنای زیستی بالا و حضور حدود ۱۴۶ گونه چوبی با قدمت طولانی و حضور انحصاری برخی از آنها در طول دامنه شمالی رشته کوه‌های البرز، سبب شکل‌گیری یکی از قدیمی‌ترین و متنوع‌ترین جنگل‌های پهن برگ در

تکرارپذیری بالا، روشی مناسب برای شناسایی ژنوتیپ‌های مختلف این گونه معرفی نموده‌اند. در ضمن Rogl و همکاران (۱۹۹۶) الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر را تکنیکی مناسب برای تمایز ژنتیکی دو گونه *Quercus petraea* و *Quercus ruber* از یکدیگر، پیشنهاد نمودند. نظر به اینکه مطالعه الگوی الکتروفورزی بذر در جنس نمدار در شمال ایران، تاکنون گزارش نشده و با توجه به عدم تأثیرپذیری نیمرخ الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر از شرایط محیطی (Mclendon et al., 1993; Ladizinsky & Hymowitz, 1979)، تحقیق حاضر به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی نمدار بر اساس الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر و میزان تطابق نتایج آن با نتایج تنوع ریختی بذر و احتمال ژنتیکی بودن مورفوتیپ‌های مختلف نمدار معرفی شده در سطح جنگل‌های هیرکانی (Yousefzadeh et al., 2010) انجام شده است.

مواد و روشها

شناسایی رویشگاه‌ها و جمع‌آوری نمونه

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در سطح جمعیت‌های نمدار، ۵ جمعیت دلیر، چمستان، ولیک‌بن، بندبن و لوه که قبلاً توسط Yousefzadeh و همکاران (۲۰۱۰) مطالعه تنوع تیپ‌های ریختی میوه آنها انجام شد، انتخاب گردیدند (جدول ۱). از هر جمعیت تعداد ۴ تا ۷ پایه انتخاب و میوه آنها جمع‌آوری شد. میوه‌ها بعد از جمع‌آوری، در یکی از تیپ‌های ریختی مطالعه شده توسط Yousefzadeh و همکاران (۲۰۱۰) مطابق جدول ۲، دسته‌بندی شدند.

(Khosravi, 2002). از آنجایی که این میزان تخریب مطمئناً سبب فرسایش ژنتیکی و از دست رفتن بسیاری از ذخایر ژنتیکی این گونه ارزشمند گردید، تعیین تشابه و یا تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های گیاهی نمدار، بر اساس روش‌های مستقل از محیط، می‌تواند کمک شایانی جهت بکارگیری روش‌های مدیریتی مناسب به منظور حفاظت، احیاء و توسعه آن نماید. اگرچه امروزه نشانگرهای مولکولی به راحتی این امر را محقق می‌نمایند، اما نشانگرهای بیوشیمیایی نیز به دلیل ارزانی، عدم تأثیرپذیری از شرایط محیطی و وجود چندشکلی پروتئینی واضح کاربرد بالایی در ژنتیک حفاظت دارند (Krishnan & Sleper, 1997 و Gilliland et al., 2000). از آنجایی که بروز ژن‌ها با تولید محصولات پروتئینی همراه است، چند شکلی در الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، می‌تواند بیانگر میزان تشابهات و اختلافات ژنتیکی بین گیاهان و یا جمعیت‌های گیاهی که با یکدیگر مقایسه می‌شوند، باشد. بر این اساس مطالعات زیادی روی بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله گونه *Populus euphratica* (Calagari & Salehi, 2010)، گونه *Fagus sylvatica* (Busov, 1993)، جنس *Quercus L.* (Rogl et al., 1996) و تیره *Fagaceae* (Collada et al., 1988) انجام گرفته است. گزارش‌های ذکر شده، کارایی الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر را در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های گیاهی تایید کردند و نشان دادند که نیمرخ پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به دلیل عدم تأثیرپذیری از شرایط محیطی اطلاعات تاکسونومیکی مفیدی را فراهم می‌نماید. (Stoyanova & Boller, 2010) با بررسی تنوع ۴۵ ژنوتیپ *Festuca pratensis* بکارگیری الگوی الکتروفورزی بذر را به دلیل قدرت تفکیک و

جدول ۱- موقعیت جغرافیایی و ترکیب درختی توده‌های مورد استفاده در این تحقیق برای جمع‌آوری بذر

منطقه	استان	شهر	عرض جغرافیایی*	طول جغرافیایی*	ارتفاع از سطح دریا*	ترکیب توده
دلیر	مازندران	چالوس	۴۰۲۰۴۲۳	۵۰۸۲۵۰	۱۹۰۰-۲۲۰۰	افرا- ممرز- زبان گنجشک
چمستان	مازندران	نور	۴۰۳۹۵۹۷	۵۹۶۴۱۲	۵۰	نهایستان
بندبن	مازندران	سواد کوه	۳۹۸۵۶۱۲	۶۹۹۵۲۵	۲۳۰۰-۲۷۰۰	توس- تیس- آوری- نم‌دار
ولیک‌بن	مازندران	ساری	۴۰۰۰۳۱۲	۰۶۵۹۲۲۱۰	۱۲۰۰-۱۳۵۰	راش- افرا- ممرز
لوه	گلستان	گالیکش	۴۱۳۰۳۵۲	۳۸۰۴۰۶	۱۱۰-۱۳۵۰	افرا- ممرز- نم‌دار

- مقیاس به واحد UTM است.

جدول ۲- ویژگی‌های ریختی سه گروه بذر مورد مطالعه (برگرفته از Yousefzadeh و همکاران (۲۰۱۰))

اندازه	رنگ کرک	وضوح کرک	نوع کرک میوه	پوسته میوه	منطقه پراکنش در جنگل‌های
برجستگی	میوه				هیرکانی
مشخص	حنایی انبوه	براحتی قابل دید	میله‌ای	نسبتاً محکم	محدوده شرقی
بدون	خاکستری تیره	غیر قابل دید با چشم	ساده + ستاره‌ای	نازک و شکننده	در ارتفاعات بالای ۱۸۰۰ متر
بسیار مشخص	خاکستری روشن تا نسبتاً	براحتی قابل دید	ستاره‌ای	بسیار محکم	ارتفاعات میانی، سرتاسر جنگل‌های هیرکانی

روش استخراج و انجام الکتروفورز

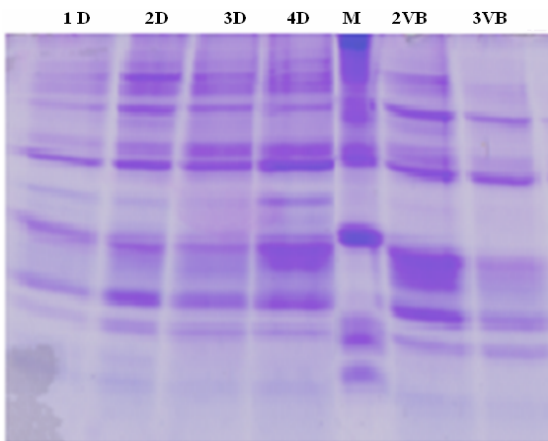
برای استخراج پروتئین، سه دهم گرم بذرها کاملاً رسیده از هر درخت، با استفاده از نیتروژن مایع در هاون ساییده شد. پس از آن، به تدریج بافر استخراج تریس گلیسین به نمونه اضافه گردید، تا در نهایت حجم نمونه به ۳ میلی‌لیتر رسید. عصاره‌های بدست‌آمده دو مرتبه (هر بار به مدت ۵ دقیقه) با سرعت ۱۱۰۰۰ دور سانتی‌فیوژ شدند تا عصاره شفاف بدست آمد. جهت ممانعت از فعالیت تخریبی آنزیم‌های سرین پروتئاز از غلظت یک میلی‌مولار PMSF (Phenylmethylsulfonyl fluoride) در نمونه‌های استخراج شده استفاده شد. نمونه‌های استخراج شده، در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای استفاده‌های بعدی نگهداری شدند.

غلظت پروتئین‌های استخراج شده، به روش Bradford

(1976)، ابتدا ۵ میکرولیتر نمونه با ۹۵ میکرولیتر بافر استخراج مخلوط گردید، سپس به لوله آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد افزوده شد و پس از هم زدن شدید، جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. در این روش از BSA (Bovine serum albumin) به‌عنوان استاندارد استفاده گردید.

برای جداسازی پروتئین‌های استخراج شده از سیستم بافری ناپیوسته در ژل پلی‌آکرلامید به روش عمومی الکتروفورز احیایی سدیم دو دسیل سولفات - ژل پلی‌آکرلامید (SDS-PAGE) استفاده شد (Laemmli, 1970). پس از بهینه سازی شرایط الکتروفوزی، مقدار ۷۵۰ نانوگرم

یکدیگر قرار گرفتند (شکل‌های ۱ و ۲) و تفکیک پایه‌ها از یکدیگر تا حد بسیار زیادی منطبق با خصوصیات ریختی بذر بود (شکل ۲). در گروه اول که درخت شماره ۱ دلیر به تنهایی در آن قرار گرفت، بذر کاملاً گرد و مدور، پوسته بسیار نازک و کاغذی و برخلاف بذر سایر درختان مورد مطالعه در این تحقیق بدون برجستگی (Rib) بود. بذر درختان گروه دوم و چهارم دارای برجستگی و پوسته تقریباً سخت می‌باشد، اما درختان گروه سوم با بذرهایی با کرک‌های انبوه و به رنگ حنایی، مختص به شرقی‌ترین مناطق جنگل‌های هیرکانی، به راحتی از سایر گروه‌ها تفکیک شدند. درختان گروه پنجم نیز که همانند درختان گروه سوم متعلق به منطقه لوه بودند، به دلیل خصوصیات ریختی کاملاً متفاوت (بدون کرک حنایی روشن) و در گروهی مجزا با درختان گروه سوم قرار گرفتند.



شکل ۱ - الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای

بذر پایه‌های درختی مختلف در ژل SDS-PAGE:

(M = مارکر پروتئینی؛ D: دلیر؛ Vb: ولیک‌بن؛

B: بندبن؛ L: لوه؛ Ch: چمستان)

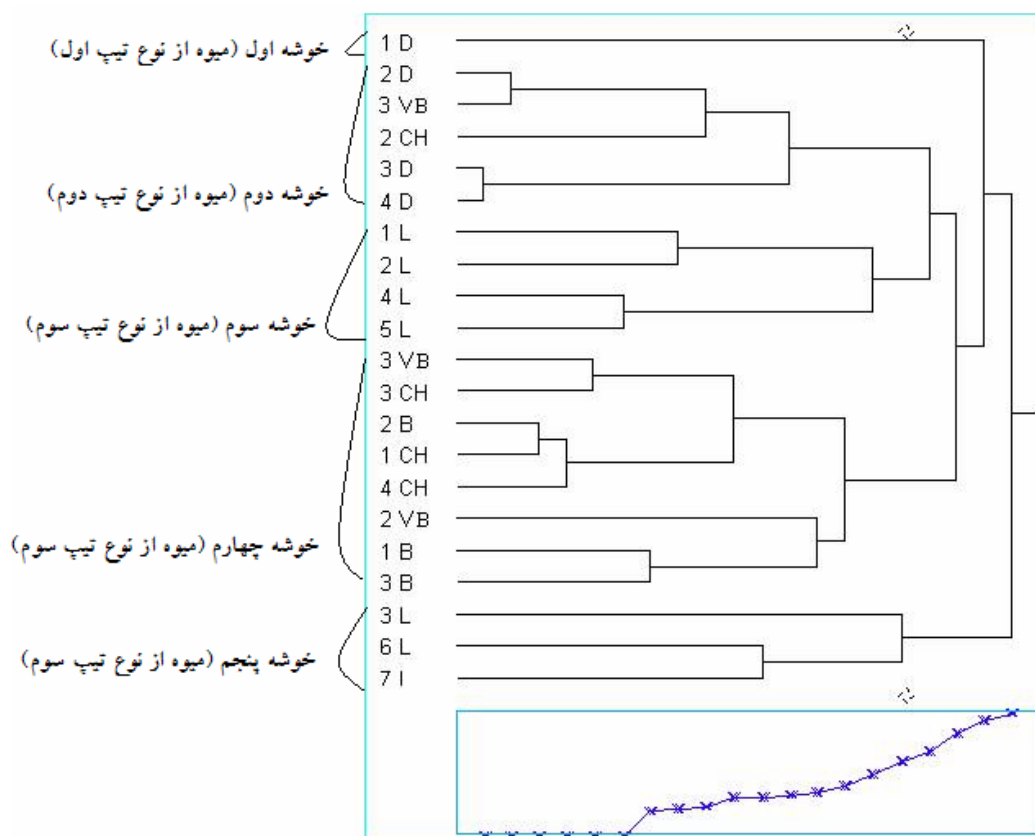
پروتئین محلول استخراج شده از هر نمونه، با استفاده از ژل جداکننده ۱۲/۵ درصد آکریلامید الکتروفورز شدند و به روش عمومی رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو R250 (که شامل متانول، اسید استیک و آب مقطر به ترتیب به مقدار ۰/۲۵ گرم کوماسی بلو، ۱۲۰، ۲۵، ۱۰۰ میلی‌لیتر است) رنگ‌آمیزی شد و با محلول رنگ‌بر عمومی (با اختلاط به ترتیب، ۵۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) رنگ‌بری انجام شد (Westermeier, 1997). سپس ژل‌ها در محلول اسید استیک هفت درصد برای عکسبرداری نگهداری شدند.

تجزیه و تحلیل

شناسایی نوارهای پروتئینی بر حسب حرکت نسبی Relative mobility/RM یا فاکتور وضوح Relative migration distance/RF با استفاده از نسبت حرکت باندها پروتئینی به حرکت آبی بروموفنل تعیین شد. سپس با توجه به حضور یا عدم حضور پروتئین در یک جایگاه خاص، از کدهای یک و صفر به منظور تجزیه خوشه‌ای و یافتن فاصله ژنتیکی در ارزیابی کیفی استفاده گردید. تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و محاسبه فاصله ژنتیکی پایه‌های درختی با استفاده از نرم‌افزار JMP انجام گردید. همچنین، جهت بررسی میزان تطابق نتایج گروه‌بندی تنوع ریختی میوه با الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر از آنالیز تشخیص Discriminant Analysis در محیط نرم‌افزار Minitab 14، استفاده شد.

نتایج

براساس نتایج الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، نمونه‌های مورد مطالعه در ۵ گروه مجزا از



شکل ۲ - تجزیه خوشه‌ای پایه‌های درختی از جمعیت‌های مورد بررسی براساس الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (D: دلیر؛ Vb: ولیک‌بن؛ B: بندبن؛ L: لوه؛ Ch: چمستان)

جدول ۳ - فاصله ژنتیکی پایه‌های مورد تحقیق با یکدیگر

فاصله	شماره پایه‌ها	فاصله	شماره پایه‌ها
۲/۱۴	۲ بندبن	۰	۳ ولیک‌بن
۲/۲۴	۷ لوه	۰	۶ لوه
۲/۲۷	۳ دلیر	۰	۲ دلیر
۲/۴	۱ بندبن	۰	۲ ولیک‌بن
۲/۹	۳ ولیک‌بن	۰	۲ ولیک‌بن
۳/۵۳	۴ لوه	۰	۱ لوه
۴/۲۶	۶ لوه	۱/۳۹	۳ لوه
۵/۸۲	۳ ولیک‌بن	۱/۴۶	۲ دلیر
۶/۷	۲ دلیر	۱/۶۱	۲ چمستان
۷/۱۴	۳ لوه	۱/۸۶	۱ لوه

گرده‌افشانی این جنس (حشره گرده‌افشان)، سؤال‌برانگیز است، زیرا در گونه‌های حشره گرده‌افشان به دلیل وجود تبادل ژنتیکی بین پایه‌های درختی در سطح یک جمعیت، وجود تنوع درون جمعیتی بالا قابل انتظار نیست (Hamrick, 1989). بنابراین، توجیه این مسئله به دو حالت امکان‌پذیر است. اول، بین جمعیت‌های گیاهی این گونه از طریق گرده‌افشانی توسط باد تبادل ژنتیکی وجود دارد. این وضعیت حداقل برای دو جمعیت بندین و دلیر که به لحاظ موقعیت جغرافیایی امکان تبادل ژنتیکی را با سایر جمعیت‌ها ندارند، صادق نمی‌باشد. دوم، احتمال حضور گونه‌های متفاوت از جنس نمدار در یک رویشگاه (Sympatric) و احتمال وقوع هیبریداسیون بین آنها. باید اضافه کرد که این موضوع برای بسیاری از گونه‌های جنس نمدار گزارش شده است (Ayers, 1976).

جمع‌بندی

این نتایج از یک سو نشان داد که الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر بین تیپ‌های متفاوت ریختی میوه نمدار، متفاوت است و همسویی بالایی بین نتایج گروه‌بندی صفات ریختی بذر و نیمرخ الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای وجود دارد. از سوی دیگر قرارگرفتن پایه‌های درختی جمعیت‌های شرق جنگل‌های هیرکانی با میوه کاملاً متفاوت از سایر جمعیت‌ها (جمعیت لوه؛ میوه پوشیده با انبوهی از کرک‌های حنایی رنگ) در خوشه مجزا، می‌تواند نشان از تمایز ژنتیکی درختان نمدار این منطقه از سایر جمعیت‌ها باشد.

در بررسی فاصله ژنتیکی پایه‌های درختی، درختان شاخص سه تیپ متفاوت بذر (بذر با کرک‌های حنایی انبوه، درخت شماره ۱، ۲ و ۳ لوه، بذر با ریب‌های برجسته، درخت شماره ۲ دلیر؛ بذر گرد و مدور با پوسته کاغذی و بدون برجستگی) دارای بیشترین فاصله ژنتیکی از یکدیگر بودند (جدول ۳).

نتایج آنالیز تشخیص جهت تعیین میزان صحت طبقه‌بندی نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای با خصوصیات رویشگاه حکایت از مطابقت حدود ۷۰ درصدی آن داشت.

بحث

از آنجایی که پروتئین‌ها نتیجه عملکرد بیان ژن می‌باشند، از این رو الگوی متفاوت الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر می‌تواند بیانگر وجود تنوع ژنتیکی در سطح جمعیت‌های نمدار باشد. اما آنچه جالب توجه است وجود تنوع در داخل افراد یک جمعیت به‌ویژه جمعیت لوه هم از طریق نتایج ریختی بذر و هم الگوی پروتئینی بذر است. در واقع در جمعیت‌های شرق جنگل‌های هیرکانی دو تیپ ریختی بذر (جدول ۲، تیپ دوم و سوم) وجود دارد که الگوی پروتئینی ذخیره‌ای بذر نیز آنها را در دو گروه کاملاً متفاوت (شکل ۲، خوشه سوم و پنجم) قرار داد. وجود تغییرات ژنتیکی درون جمعیتی، یک مزیت تکاملی برای گونه در شرایط محیطی بی‌ثبات و نتیجه تبادل ژنتیکی ژنوتیپ‌های متفاوت با یکدیگر است (Endler, 1977). این مسئله در مطالعات تکاملی جهت تعیین ارتباط گونه‌های مختلف یک جنس اثبات شده است (Mirali et al., 2007). البته وجود تنوع درون جمعیتی بالا در جنس نمدار، با توجه به سیستم

منابع مورد استفاده

- Krishnan, H. B. and Sleper, D. A., 1997. Identification of tall fescue cultivars by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis of seed proteins. *Crop Science*, 37: 215-219.
- Ladizinsky, G. and Hymowitz, T., 1979. Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies. *Theoretical and Applied Genetics*, 54: 145-157.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227:680-685.
- McLendon, M. E., Lanning, S. P., Mcguire, J. M. and Talbert, L. E., 1993. Variation of seed storage proteins within hard red spring wheat cultivars and effect on end-use properties. *Cereal Chemistry*, 70: 607-610.
- Mirali, N., EL-Khoury, S. and Rizq, F., 2007. Genetic diversity and relationships in some *Vicia* species as determined by SDS-PAGE of seed proteins. *Biologia Plantarum*, 51: 660-666.
- Rogl, S., Javornik, B., Sinkovic, T. and Batic, F., 1996. Characterization of oak (*Quercus* L) seed proteins by electrophoresis. *Phyton-Annales Rei Botanicae*, 36, 159-162.
- Stoyanova, S. and Boller, B., 2010. Seed protein electrophoresis for assessment of genetic variation within genotypes of meadow fescue. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46: 75-81.
- Yousefzadeh, H., Tabari, M., Hosseinzadeh Colagar, A., Assadi, M. and Sattarian, A., 2010. Morphotypes of *Tilia spp.* fruits in Hyrcanian forests. *Rostaniha*, 11:43-53
- Westermeier, R., 1997. *Electrophoresis in Practice, A Guide to Method and applications of DNA and Protein Separations*, Chapter 1, Electrophoresis; 2nd eds; VCH. A Wiley Company; pp. 6-39.
- Khosravi, A., 20۰2. History and executive document of forestry plans inside country, Technical forestry office, Forests and Rangelands Organization of Iran.
- Ayers, G. S., 1993. Reconsidering the basswoods: 11. The native American basswoods. *American Bee Journal*, 133: 337-340.
- Busov, V., 1993. Variability of SDS-PAGE detected polymorphic fractions of beech seed proteins in Bulgarian natural populations. In: Muhs, H. J. and Wuehlisch, G. V. (eds): *The Scientific Basis For The Evolution of Forest Genetic Resources of Beech*. Working Document of the EC, Brussels: 157-170.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Collada, C., Caballero, R. G., Casado, R., and Aragoncillo, C., 1988. Different types of major storage seed proteins in fagaceae species. *Journal of Experimental Botany*, 39: 1751-1758.
- Calagari, M. and Salehi-Shanjani, P., 2010. Study of genetic variation in *Populus euphratica* Oliv. by evaluating soluble proteins through SDS-PAGE. *Iranian Journal of Forest Fall*, 2: 253-275.
- Endler, J. A., 1977. *Geographical variation, speciation and clines*. Princeton, NJ, USA: Princeton University Press.
- Gilliland, T. J., Coll, R., Calsyn, E., De Loose M., Van Eijk, M. J.T. and Roldan-Ruiz I., 2000. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties.1. Morphology and biochemical characterisation. *Molecular Breeding*, 6: 569-580.
- Hamrick, J. L., 1989. Isozymes and analyses of genetic structure of plant populations. In: Soltis, D and Soltis, P. (eds.) *Isozymes in Plant Biology*, Discorides Press, Portland Oregon. 87-105.

Genetic diversity of the *Tilia* sp. using seed protein electrophoresis

H. Yousefzadeh¹, A. Hosseinzadeh Colagar^{*2}, M. Tabari³, A. Sattarian⁴ and M. Assadi⁵

1-Ph.D. Student, Department of Forestry, Tarbiat Modares University, Noor, I.R.Iran

2*-Corresponding author, Assoc. Prof., Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R.Iran. E-mail: ahcolagar@umz.zc.ir

3- Assoc. Prof., Department of Forestry, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

4-Assis. Prof., Department of Forestry, Agriculture and Natural Resources of Gonbad University, Gonbad, I.R.Iran

5- Prof., Research Institute of Forests and Rangelands of Iran, Tehran. I.R.Iran

Received: 16.01.2011

Accepted: 16.10.2011

Abstract

To evaluate the genetic variation of *Tilia* sp. in hyrcanian forest seed proteins of five populations including; Dalir, Chamestan, Band-bone, Valik-bone and Loveh were analyzed by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Seed proteins profile with fruit morphology diversity were also investigated by discriminant analysis. Due to, three current types of fruits including rufous trichomes, prominent rib and without rib were selected. The different clustering pattern of individuals from same population, especially in Loveh in east of Hyrcanian forest, might be due to lack of germplasm exchange between the neighboring regions. Cluster analysis using data generated by SDS-PAGE bands seed protein patterns, clearly separated three fruit morphotypes. In general, this study proved relationship between the studied storage protein and fruits morphotype.

Key words: *Tilia*, Seed protein electrophoresis, Fruits morphology, Hyrcanian forest.