Archive of SID

دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۴، شماره ۲، صفحه ۲۰۷-۱۹۹ (۱۳۹۵)

تنوع ژنتیکی جمعیت‌هایی از گز روغنی بر پایه پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر

حسین میرزایی ندوشن*[۱]، زینب نظری[۲]، فرشته اسدی‌کرم[۳] و غلامرضا بخشی خانیکی[۴]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

پست الکترونیک: nodoushan2003@yahoo.com

۲- کارشناس ارشد، دانشگاه پیام نور، تهران

۳- کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

۴- استاد و عضو هیئت علمی دانشگاه پیام نور، تهران

تاریخ دریافت:۱۳۹۴/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۰۱

چکیده

گز روغنی (*Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori) گونه‌ای با ارزش با کاربردهای وسیع تغذیه‌ای، دارویی، بهداشتی، صنعتی و اقتصادی است و با وجود گسترش محدود در جهان و ایران در معرض فرسایش ژنتیکی شدید می‌باشد. با توجه به اهمیت و نقش آن در زمینه‌های مختلف، تحقیق در ویژگی‌های زیستی آن ازجمله بررسی تنوع ژنتیکی می‌تواند زمینه‌های رشد و توسعه آن را فراهم کند. به این منظور، بذر ۱۱ پایه مختلف از این گونه که از چهار منطقه بلوچستان جنوبی جمع‌آوری شده بودند، در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند. پس از استخراج پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر ژنوتیپ‌ها، با الکتروفورز به‌روش SDS-PAGE به ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در درون و بین جمعیت‌های مذکور در سطح ماکرومولکول‌های پروتئینی اقدام شد. پس از اجرای الکتروفورز و تثبیت و رنگ‌آمیزی باندهای پروتئینی، حضور یا عدم حضور باندهای پروتئینی مورد توجه و مطالعه قرار گرفت. از نظر شکل و تعداد باندهای پروتئینی و همچنین از نظر خصوصیات کیفی تفاوت زیادی میان ژنوتیپ‌ها و بین مناطق مختلف مشاهده نشد که بتواند مبنای تفکیک و تمایز بین ژنوتیپ‌ها قرار گیرد. ولی از لحاظ تراکم باندها تفاوت‌های زیادی بین مناطق و رویشگاه‌های مختلف و ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. از آنجا که جریان ژنی و تداخل جمعیت‌ها از طریق بذر و به‌صورت طبیعی کمتر اتفاق می‌افتد، بنابراین انتظار می‌رود که تداخل جمعیت‌ها کمتر باشد و تمایزی بیش از تفاوت مشاهده شده بین جمعیت‌ها مشاهده شود.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز، باند پروتئینی، تنوع ژنتیکی، مورینگا

مقدمه

گونه‌های جنس مورینگا (*Moringa*) ارزش دارویی و زیست‌محیطی زیادی دارند و برخی از این گونه‌ها ازجمله گونه *M. oleifera* معروف به معجزه طبیعت شده و دارای کاربردهای زیادی است، به‌طوری‌که بسیاری از محققان آن را غنی‌ترین و مغذی‌ترین گیاه می‌دانند. گونه‌های این جنس حاوی مقادیر زیادی از مواد مغذی طبیعی شامل ویتامین‌ها، مواد معدنی، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری، کلروفیل، امگا۳ و دیگر مواد طبیعی مهم می‌باشند. برگ‌ها به استخوان‌سازی کمک کرده و در درمان دیابت، چربی و فشار

www.SID.ir

Archive of SID

خون بالا استفاده می‌شوند (Fuglie, 1999). گونه‌های مورینگا دارای خصوصیاتی هستند که به درمان رماتیسم، آرتریت و دردهای مفصلی کمک کرده و محرک قلب و سیستم گردش خون و دارای فعالیت ضدفساد، ضد اسپاسم و ادرارآور می‌باشند (Caceres *et al.*, 1992; Asres, 1995). همچنین، دارای خواص ضدمیکروبی (Fahey, 2005)، ضد قارچی (Lipipun *et al.*, 2003)، ضدسرطان (Bharali *etal.*, 2003)، ضد التهاب و ضد درد (Sashidhara *et al.*, 2007)، ضدانگل (Fabiyi *et al.*, 1993) و ضدویروس (Murakami *et al.*, 1998) می‌باشند. تعدادی از گونه‌های جنس مورینگا چندمنظوره بوده، به‌طوری‌که علاوه بر تولید مواد خوراکی، در حفاظت خاک، حفظ محیط‌زیست و فضای‌سبز کاربرد دارند (Mirzaie-Nodoushan & Asadicorom, 2010). گونه‌ای از مورینگا با نام علمی *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori در ایران در استان‌های سیستان و بلوچستان و هرمزگان از بشاگرد تا پیشین در مرز پاکستان، بین عرضهای ´۵۰ °۲۵ تا ´۳۴ °۲۶ بر روی سازندهای زمین‌شناسی خاص در مناطق کوهستانی مشاهده می‌شود (Keneshloo, 2013).

اصلی‌ترین و مهمترین محصول مورینگا روغن بذر آن می‌باشد که کیفیتی در حد روغن زیتون داشته و علاوه بر کاربردهای وسیع تغذیه‌ای- دارویی، به‌علت مقاومت در برابر حرارت‌های بالا، در صنایع عطرسازی، ساعت‌سازی، خودروسازی و غیره نیز مورد توجه است که این خصوصیت ناشی از مقاومت حرارتی بالای پروتئین‌های بذر مورینگا می‌باشد (Kleiman *et al.*, 2008). بذر این گونه همچنین دارای قابلیت تصفیه آب است (Ghebremichael *et al.*, 2006)، و نیز به‌علت داشتن مقادیر بالای پروتئین، می‌تواند به‌عنوان یکی از تأمین‌کننده‌های پروتئین گیاهی برای رفع نیاز نشخوارکنندگان مطرح شود (Sanchez *et al.*,2006). از این‌رو، مطالعه پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گز روغنی ضروری به‌نظر می‌رسد.

با ابداع و گسترش روش‌های مختلف الکتروفورزی به‌ویژه الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به‌روش SDS-PAGE، در مطالعه تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی، تکامل و خویشاوندی‌های ژنتیکی گونه‌های مختلف گیاهی استفاده‌های گسترده‌ای می‌شود (Panigrahi و همکاران، ۲۰۰۷). تاکنون محققان زیادی به استخراج و تفکیک پروتئین‌ها و بررسی خواص آنها در برخی گونه‌های گیاهی پرداخته‌اند. گونه‌های مختلف مورینگا گیاهانی هستند که از این نظر مورد توجه قرار گرفته‌اند تا ضمن تفکیک پروتئین‌های با وزن مولکولی کم و پپتیدهای استخراج شده از اجزای مختلف گیاه، خواص متعدد آنها ازجمله خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی نیز مطالعه شود (Dahot, 1996).

گازرخ یا گزروغن متعلق به خانواده Moringaceae و جنس *Moringa* است. تاکنون از این خانواده سیزده (Steinitz *et al.*, 2009) تا چهارده گونه (Anwar *et al.* 2005, در دنیا گزارش شده است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان پراکنده شده‌اند. همه گونه‌های مورینگا در اصل از هندوستان منشأ گرفته‌اند و از آنجا به بسیاری از کشورهای گرم دنیا راه یافته‌اند (Sanchez –Machado *et al.*, 2006). گونه‌های مختلف این جنس تفاوت‌های زیادی از نظر شکل ظاهری، نیازهای رویشگاهی و کاربرد دارند. گازرخ بیشترین گسترش را در بین دیگر گونه‌ها داشته و رویشگاه آن از حوالی دریای مرده (حوالی عرض ۳۰ درجه شمالی) شروع شده و به‌طور پراکنده در طول سواحل دریای سرخ تا شمال سومالی و حوالی شبه جزیره عربستان تا دهانه خلیج فارس (امارت عربی متحده، عربستان، فلسطین و ...) گسترش دارد. گازرخ در ایران در جنوب استان‌های سیستان و بلوچستان (تنگ‌سرحه، نیک‌شهر، بنت، دهان، دسک، پیشین، بافتان و فنوج) و هرمزگان (بشاگرد) رویش دارد (Mozaffarian, 2005; Javanshir, 1994).

این گونه درختچه‌ای و بیابانی بوده و علاوه بر داشتن چوب مقاوم به موریانه و روغن با کیفیت بالا، نیاز آبی کمتری نیز نسبت به گونه‌های مشابه مانند گونه *M. oleifera* دارد (Mirzaie-Nodoushan & Asadicorom, 2010). ولی با بی‌توجهی هم‌اکنون در معرض خطر انقراض قرار گرفته است و از آنجایی که پراکنش آن محدود به غرب و

www.SID.ir

Archive of SID

جنوب‌غرب آسیا و شمال افریقا می‌باشد، کمتر در سطح بین‌المللی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است (Hegazy و همکاران، ۲۰۰۸). مطالعات زیادی بر روی این گونه از نظر تنوع ژنتیکی به‌ویژه با روش‌هایی مانند SDS-PAGE انجام نشده است. البته با توجه به گستردگی که این گونه در جنوب‌شرقی کشور دارد، با وجود فرسایش شدیدی که از لحاظ رویشگاهی در آن دیده می‌شود، انتظار می‌رود هنوز تنوع ژنتیکی کافی که بتوان در احیاء و اصلاح آن مورد استفاده قرار گیرد وجود داشته باشد.

دلیل توجه به پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در مورینگا، قابلیت‌های مختلفی است که این پروتئین‌ها از خود نشان داده‌اند. خاصیت انعقاد ذرات معلق در آب و سایر محلول‌ها موجب توانایی این نوع پروتئین‌ها در تصفیه این محلول‌ها شده است (Broin *et al.*, 2002; Gassenschmidt *et al.*, 1995 و Kilduff *et al.*, 1996). به‌عبارت دیگر از زمانی که خاصیت تصفیه آب در اثر استفاده از سوسپانسیون محتوای پروتئین‌های بذر این گونه مشخص شد، گروهی از محققان در پی توصیف پروفیل پروتئین‌های آن برآمدند (Ghebremichael *et al.*, 2006).

در این تحقیق ضمن مشخص شدن تفاوت‌های قابل توجه در ویژگی‌های رویشی، تفاوت میان جمعیت‌ها و پایه‌های مختلف در رویشگاه‌های جنوب‌شرق کشور، اختلاف در سطح مولکولی با استفاده از روش SDS-PAGE مورد مطالعه قرار گرفت تا تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی این گونه مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

بذر گز روغنی از چهار منطقه از جنوب بلوچستان جمع‌آوری شد (جدول ۱). برای مطالعه تنوع ژنتیکی در سطح پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌های مورد نظر الکتروفورز به‌روش SDS-PAGE انجام شد. در انتخاب بذر مورد استفاده، ابتدا ۱۱ پایه از چهار منطقه انتخاب شدند و از هر پایه نیز دو بذر به‌تفکیک در استخراج پروتئین مورد استفاده قرار گرفت تا ضمن مقایسه مناطق مختلف و نیز پایه‌های متفاوت در درون و بین مناطق، تفاوت‌های احتمالی موجود بین بذرهای مختلف تک‌پایه‌ها نیز بررسی شود. به این منظور پس از تهیه محلول‌های مورد نیاز به‌روش Mirzaie-Nodoushan و همکاران (۲۰۰۲)، برای استخراج پروتئین، ۲/۵ گرم از هر نمونه در هاون چینی به‌همراه ۲ml بافر استخراج، با استفاده از ازت مایع و بر روی ظرفی حاوی قطعات یخ ساییده شد. عصاره حاصل سه مرتبه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. آنگاه هربار پس از برداشتن روغن رویی و رسوب زیرین، محلول شفاف میانی جدا شده و به لوله آزمایش جدیدی منتقل شد. برای آماده سازی عصاره پروتئینی، غلظت محلول‌ها توسط اسپکتروفوتومتری و خواندن جذب نور پروتئین محلولها محاسبه شد و میزان بافر نمونه (حاوی SDS و بتامرکاپتواتانول) برای هر نمونه تعیین شد و به‌همان میزان از محلول پروتئینی مخلوط شد. نمونه‌ها به‌مدت ۲ دقیقه در حمام آب‌جوش و بعد به ظرف یخ منتقل شدند. پس از آماده‌سازی ژل، مقدار µl ۲۰ از عصاره پروتئینی هر نمونه در هر چاهک تزریق و روی آن با بافر الکترود پر شد. شدت جریان و ولتاژ مورد استفاده در آزمایش به‌ترتیب ۳۰ میلی‌آمپر و ۸۰-۷۰ ولت بود. پس از رسیدن سطح رنگ آبی برومونفل به انتهای ژل زیرین، ژل از دستگاه خارج و توسط محلول رنگی کماسی بلو به‌مدت ۱۶ ساعت در دمای محیط رنگ‌آمیزی شد. برای مشاهده باندهای پروتئینی، ابتدا ژلها رنگبری‌شده و بعد مورد ارزیابی و مطالعه قرار گرفتند. پس از چند بار تکرار آزمایش، مطالعه باندهای پروتئینی انجام شد. ابتدا جایگاه هر باند بر روی ژل مشخص شده و حضور یا عدم حضور هر باند در هر نمونه مورد مطالعه به‌ترتیب با اعداد ۱ و صفر تعیین شد و ماتریس عددی حاصل که مشتمل بر ۴۰ سطر و ۲۲ ستون بود برای تجزیه‌وتحلیل به‌کار گرفته شد. ابتدا از ماتریس داده‌ها برای تجزیه خوشه‌ای به‌روش Ward توسط نرم‌افزار JMP استفاده شد. آنگاه فاصله بین زیرخوشه‌ها بر اساس واریانس بین گروهی تعیین شد و در نهایت دندروگرام مورد نیاز برای دسته‌بندی نمونه‌ها رسم شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- مناطق جمع‌آوری نمونه‌های مورد مطالعه گز روغنی

ردیف	منطقه	کد	ردیف	منطقه	کد
۱	جنوب بلوچستان	S11	۱۲	چانف	C12
۲	جنوب بلوچستان	S12	۱۳	چانف	C21
۳	جنوب بلوچستان	S21	۱۴	چانف	C22
۴	جنوب بلوچستان	S22	۱۵	چانف	C31
۵	پوغونزی	P11	۱۶	چانف	C32
۶	پوغونزی	P12	۱۷	گرهون	G11
۷	پوغونزی	P21	۱۸	گرهون	G12
۸	پوغونزی	P22	۱۹	گرهون	G21
۹	پوغونزی	P31	۲۰	گرهون	G22
۱۰	پوغونزی	P32	۲۱	گرهون	G31
۱۱	چانف	C11	۲۲	گرهون	G32

نتایج

در پروفیل پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر ۲۲ ژنوتیپ مورد مطالعه که از چهار منطقه بلوچستان جمع‌آوری شده بودند، در مجموع ۴۰ باند مشاهده شد (شکل ۱). در نگاه اول اختلاف زیادی بین باندهای ژنوتیپ‌های مختلف دیده نشد اما به‌نظر می‌رسید که از لحاظ پروفیل پروتئینی همه پایه‌ها و مناطق مشابهند. ولی از نظر جزئیات، تفاوت‌هایی میان ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های مختلف قابل شناسایی بود که اندازه یا وزن مولکولی باندهای پلی‌پپتیدی تفکیک شده آنها در دامنه‌ای بین ۱۸ تا ۱۱۶ کیلودالتون (KD) متغیر بود. باندهای مشاهده شده بر روی تصویر ژل از بالای ژل به پائین شماره‌گذاری شدند. پروفیل حاصل از باندهای پروتئینی به سه قسمت تقسیم شدند، بخش اول از پروتئین‌های با وزن مولکولی زیاد (بین ۴۵ تا ۱۱۶ KD)، بخش دوم از پروتئین‌های با وزن مولکولی متوسط (بین ۲۵ تا ۴۵ KD) و بخش سوم از پروتئین‌های با وزن مولکولی کم (بین ۱۸ تا ۲۵ KD) تشکیل شد. بیشترین تعداد باندها در محدوده پروتئین‌های با وزن مولکولی زیاد و کمترین تعداد در محدوده پروتئین‌های با وزن مولکولی متوسط قرار گرفتند.

در جزئیات حضور یا عدم حضور باندهای ۱ تا ۶ در ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های مختلف بسیار تعیین‌کننده و مشهود بود و نشان‌دهنده ایجاد تنوع در بین جمعیت‌های مورد مطالعه بود. باند شماره ۲۱ در ژنوتیپ‌های C11 و C12 و نیز S11 و S12 به‌طور قابل ملاحظه‌ای پهن و اختصاصی بود (جایگاه باند در شکل نشان داده شده است).

باندهای ۳۹،۳۸،۳۷،۱۴،۱۷،۱۲،۱۹،۲۱،۲۲،۲۳،۲۵،۲۷، ۴۰ در تمامی ژنوتیپ‌ها دیده شد. باند ۶ تنها در P32 و G11 دیده شد. این دو ژنوتیپ در دندروگرام نیز در یک دسته مجزا جای گرفتند. البته فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌ها در دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های حاصل دیده می‌شود (شکل۲). در دسته‌بندی کلی جمعیت‌ها به ۲ گروه عمده تقسیم شدند، که ژنوتیپ‌هایی از مناطق چانف، گرهون و جنوب بلوچستان در هر دو گروه به‌چشم می‌خورند ولی ژنوتیپ‌های منطقه پوغونزی در یک گروه مستقل قرار گرفتند.

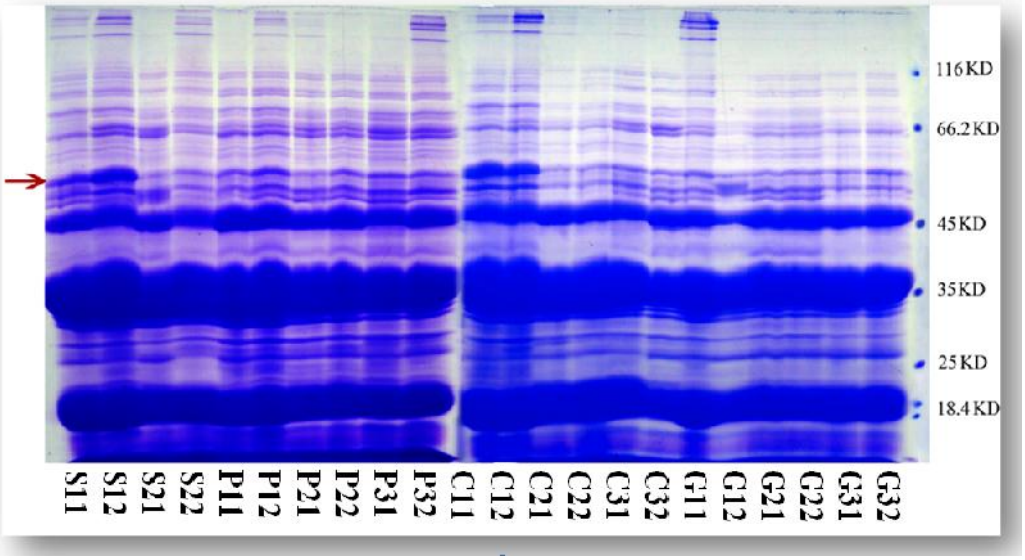
در تقسیم‌بندی جزئی‌تر و با توجه به خط برش مشخص شده در دندروگرام، جمعیت‌ها به ۴ گروه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌های S11 و S22 در یک گروه مجزا، |

www.SID.ir

Archive of SID

تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه منطقه پوغونزی به‌همراه تعدادی از ژنوتیپ‌های مناطق چانف و یک ژنوتیپ از مناطق جنوب بلوچستان و گرهون در گروه دوم، بیشتر ژنوتیپ‌های منطقه گرهون به‌همراه تعدادی از ژنوتیپ‌های منطقه چانف و یک ژنوتیپ از جنوب بلوچستان در گروه سوم و یک ژنوتیپ از گرهون به‌همراه تعدادی دیگر از ژنوتیپ‌های چانف در گروه چهارم قرار گرفتند.

قرار گرفتن ژنوتیپ‌های S11 و S22 از دو پایه مختلف در یک زیرخوشه و P22 و P31 از دو پایه مجزا در یک زیرخوشه دیگر، حکایت از تشابه زیاد پروفیل باندهای پروتئینی این ژنوتیپ‌ها که از جمعیت‌های مشترکی سرچشمه گرفته‌اند، داشت. قرار گرفتن دو به‌دوی ژنوتیپ‌های G21 و G22، G31 و G32، A21 و A22، A31 و A32، C11 و C12، هریک در یک زیرخوشه از تشابه زیاد پروفیل باندهای پروتئینی این ژنوتیپ‌ها که از پایه‌های مشترک هستند، حکایت داشت.



شکل ۱- باندهای پروتئینی حاصل از الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در جمعیت‌هایی از گز روغنی

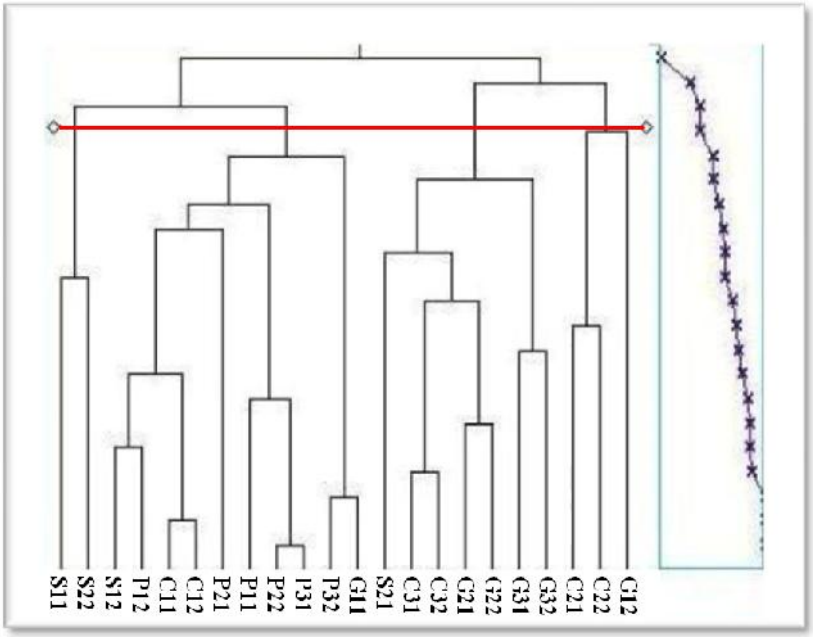
بحث

از آنجایی که پروتئین ها تولیدات مستقیم ژن‌های یک موجود می باشند، هر گونه تنوعی در حضور یا عدم حضور و نیز مقدار آنها، ناشی از تنوع ژنتیکی می باشد. از این رو، همانطورکه مشاهده می شود تنوع ژنتیکی زیادی بین و درون جمعیت های این گونه وجود دارد، به‌نحوی که بعضی از باندهای حاصل (باندهای ۵ و ۱۶)، در بعضی از ژنوتیپ ها انحصاری هستند. همچنین، تفاوت تراکم برخی از باندها (مانند باند ۲۱) در ژنوتیپ های مختلف بیانگر مقدار متفاوت پروتئین مربوط به آن باند می باشد.

تفاوت های موجود بین ژنوتیپ های مورد مطالعه از نظر پروفیل باندهای پروتئینی را می توان به تفاوت‌های کمی و کیفی دسته‌بندی کرد. از نظر کمی، با وجود اینکه میزان پروتئین های بار شده به درون کلیه چاهک‌ها، برابر بود ولی تراکم برخی باندها در بین ژنوتیپ های مورد مطالعه با یکدیگر تفاوت های آشکاری را نشان دادند و مشخص شد که تراکم پروتئین ها با اندازه‌های مختلف، در بین ژنوتیپ های مورد مطالعه، متفاوت است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های الکتروفورزی جمعیت‌های مورد مطالعه از گز روغنی

همان طور که ملاحظه می‌شود تفکیک جمعیت‌های مختلف این گونه از یکدیگر نسبی است. به‌طوری‌که برخی از ژنوتیپ‌های دو جمعیت مختلف این گونه در مجاور یکدیگر در یک زیرخوشه مجزا قرار گرفتند (S12 به‌همراه P12 و P32 در کنار G11). بر اساس این نتایج، فواصل جغرافیایی توده‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه تا اندازه‌ای موجب تمایز بین جمعیت‌ها شد ولی این تمایز کامل نبود و هنوز وجوه مشترک زیادی در سطح مولکولی بین این جمعیت‌ها وجود دارد که حکایت از یک پیشینه ژنتیکی مشترک و نزدیک دارد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، می‌توان دریافت که با وجود پراکندگی جمعیت‌های مورد مطالعه از این گونه ارتباط و شباهت به‌نسبت مناسبی بین این جمعیت‌ها وجود دارد. در مقابل با توجه به بخش‌هایی از دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای می‌توان چنین استنباط کرد که تنوع مولکولی جمعیت‌های مورد مطالعه از این گونه با تنوع و پراکنش جغرافیایی آنها مطابقت دارد. به‌عبارت دیگر، بعد مسافت بین جمعیت‌های مختلف این گونه تا اندازه‌ای مانع جریان ژنی بین جمعیت‌های مختلف شده است ولی این ممانعت کامل نیست. سایر عوامل محیطی نیز در گلدهی و تولید بذر و در نتیجه در زادآوری و گسترش این گونه مؤثر هستند. بنا بر مشاهدات Keneshloo و همکاران (۲۰۱۴) بارندگی از عواملی است که سبب بروز اختلال در مراحل فنولوژی این گونه در کشور می‌شود. به‌طوری‌که اگر در زمان ظهور و تلقیح گل‌ها بارندگی انجام شود، حتی با وجود گلدهی مناسب، میوه‌ای روی درخت تشکیل نمی‌شود.

لازم به‌ذکر است که گز روغنی دارای بذرهای درشتی است که جابه‌جایی آن توسط عوامل طبیعی مانند باد ممکن نیست و در صورتی‌که توسط دام هم مصرف شود سالم از سیستم گوارشی آن عبور نمی‌کند. از این‌رو، انتقال آن توسط دام‌های اهلی و وحشی نیز منتفی است. تنها راه انتقال توسط عوامل طبیعی از طریق جریان‌های سطحی است که در یک دامنه و شیب ممکن است اتفاق بیفتد. از این‌رو، جریان ژنی و تداخل جمعیت‌ها از طریق بذر و به‌صورت طبیعی کمتر اتفاق می‌افتد. بنابراین به‌نظر می‌رسد با توجه به گرمی هوای مناطق تحت رویش این گونه، انتقال گرده نیز مسافت چندانی را نپوشاند که بتواند موجب تداخل جمعیت‌های دور از هم در این گونه شود.

www.SID.ir

Archive of SID

بر اساس مطالعات انجام شده در رویشگاه‌های طبیعی، به‌دلیل بهره‌برداری‌های بی‌رویه از این گونه رویشگاه‌های پائین‌دست در سطح زیادی تخریب شده‌اند و فرسایش ژنتیکی دامن‌گیر این گونه شده است (Mirzaie-Nodoushan & Asadicorom, 2010). عدم زادآوری در رویشگاه‌های طبیعی این گونه نیز نگرانی‌های زیادی را ایجاد کرده است؛ به‌تبع این نگرانی بخشی از رویشگاه‌های پائین‌دست توسط دستگاه‌های اجرایی در حال احیاست (مشاهدات شخصی). از آنجا که بذرهای مورد استفاده در برنامه‌های احیاء رویشگاه‌های این گونه از مناطق مختلف جمع می‌شوند، انتظار می‌رود که تداخل جمعیت‌ها در مناطق تحت احیاء انجام شود. بر اساس مشاهدات منتشر نشده از عرصه‌های رویشگاهی، این گونه در مناطق مختلف از نظر ویژگی‌های مورفولوژیک جمعیت‌ها تا اندازه‌ای از هم متمایز شده‌اند که علاوه بر عوامل ژنتیکی، سایر عوامل ازجمله عوامل محیطی نیز می‌توانند در این تمایز دخیل باشند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه همکاران محترم در گروه زیست‌فناوری منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور که کمال همکاری را در اجرای این تحقیق با ما داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد. از جناب آقای مهندس هاشم کنشلو که از جهات مختلف ما را در این تحقیق یاری کردند نیز تشکر ویژه می‌کنیم.

منابع مورد استفاده

–Anwar, F., Ashraf, M. and Bahanger, M.I., 2005. Inter-provenance variation in the composition of *Moringa oleifera* oilseeds from Pakistan. JAOCS, 82: 45-51.

–Asres, K., 1995. The major constituents of the acetone fraction of Ethiopian *Moringa stenopetala* leaves. Mansoura Journal of Pharmacological Science, 11: 55-64.

–Bharali, R., Tabassum, J. and Azad, M.R.H., 2003. Chemomodulatory effect of *Moringa oleifera* Lam, on hepatic carcinogen metabolizing enzymes, antioxidant parameters and skin papillomagenesis in mice. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 4: 131-139.

–Broin, M., Santaella, C., Cuine, S., Kokkou, K., Peltier, G. and Joet, T., 2002. Flocculent activity of a recombinant protein from *Moringa oleifera* Lam. Seeds. Applied Microbiology and Biotechnology, 60:114-119.

–Caceres, A., Saravia, A., Rizzo, S., Zabala, L., De Leon, E. and Nave, F., 1992. Pharmacologic properties of *Moringa oleifera*. 2: Screening for antispasmodic, anti-inflammatory and diuretic activity. Journal of Ethnopharmacology, 36: 233-237.

–Dahot, M.U., 1996. Antimicrobial activity of small protein of *Moringa oleifera* leaves. Journal of Islamic Academy of Science, 11: 27-32.

–Fabiyi, J.P., Kela, S.L., Tal, K.M. and Istifanus, W.A., 1993. Traditional therapy of dracunculiasis in the state of Bauchi - Nigeria. Dakar Med., 38:193-195.

–Fahey, J.W., 2005. *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. Trees for Life Journal, 1:5-20.

–Fuglie, L.J., 1999. The Miracle Tree: *Moringa oleifera*: Natural Nutrition for the Tropics. Church World Service, Dakar. 68 pp.; revised in 2001 and published as The Miracle Tree: The Multiple Attributes of *Moringa*, P: 172.

–Gassenschmidt, U., Jany, K.K., Tauscher, B., and Niebergall, H., 1995. Isolation and characterization of a flocculation protein from *Moringa oleifera* Lam. BBA Biochim. Biophys Acta, 124: 477-481.

–Ghebremichael, K.A., Gunaratna, K.R. and Dalhammar, G., 2006. Single step ion exchange purification of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. Applied Microbiology and Biotechnology, 70: 526-532.

–Hegazy A.K., Hammouda, O., Lovett-Doust, J. and Gomaa, N.H., 2008. Population dynamics of *Moringa peregrina* along altitudinal gradient in the northwestern sector of the Red Sea. Journal of Arid Environments, 72: 1537-1551.

–Javanshir, K., 1994. A new species and new family for flora of Iran. Iranian Journal of Natural Resources, Annex to No. 46. 31 p.

–Keneshloo, H., Damizadeh, G.R. and Achak, M.Y., 2014. Investigation on some autecology characteristics of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori in south of Iran. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 21: 481-494.

www.SID.ir

Archive of SID

–Mozaffarian V., 2005. Trees and Shrubs of Iran. Farhang Moaser Publishers, 1003p.

–Murakami, A., Kitazono, Y., Jiwajinda, S., Koshimizu, K. and Ohigashi, H., 1998. Niaziminin, a thiocarbamate from the leaves of *Moringa oleifera*, holds a strict structural requirement for inhibition of tumor-promoter-induced Epstein-Barr virus activation. Planta Medica. 64: 319-323.

–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.

–Sanchez, N.R., Sporndly, E. and Ledin, I., 2006. Effect of feeding different levels of foliage of *Moringa oleifera* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and composition. Livestock Science, 101: 24-31.

–Sashidhara, K.V., Rosaiah, J.N., Tyagi, E., Shukla, R., Raghubir, R. and Rajendran, S.M., 2007. Rare dipeptide and urea derivatives from roots of *Moringa oleifera* as potential anti-inflammatory and antinociceptive agents. European Journal of Medicinal Chemistry. 44: 432-436.

–Steinitz, B., Tabib, Y., Gaba, V., Gefen T. and Vaknin, Y., 2009. Vegetative micro-cloning to sustain biodiversity of threatened *Moringa* species. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant, 45: 65-71.

–Keneshloo, H., 2013. Autecology of *Moringa peregerina, Capparis decidua* and *Salvadora oleiodes* & Restoration habitats and afforestation of Moringa. Research final report, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, P: 374.

–Kilduff, J.E., Karanfil, T., Chin, Y.P., and Weber, W.J.Jr., 1996. Adsorption of natural organic polyelectrolytes by activated carbon: a size-exclusion chromatography study. Environmental Science and Technology, 30:1336– 1343.

–Kleiman, R., Ashley, D.A. and Brown, J.H., 2008. Comparison of two seed oils used in cosmetics *Moringa* and *Marula*. Industrial Crops and Products, 28: 361-364.

–Lipipun, V., Kurokawa, M., Suttisri, R., Taweechotipatr, P., Pramyothin, P., Hattori, M. and Shiraki, K., 2003. Efficacy of Thai medicinal plant extracts against herpes simplex virus type 1 infection *in vitro* and *in vivo*. Antiviral Research, 60: 175-180.

–Mirzaie-Nodoushan, H., Shariat, A. and Asadicorom, F., 2002. Evaluation of existing genetic variation in different populations of *Haloxylon* spp. using electrophoresis technique. Iranian Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 7:99-117.

–Mirzaie-Nodoushan, H. and Asadicorom, F., 2010. *Moringa* Miracle of the Nature. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 211 p.

www.SID.ir

Archive of SID

Genetic variation of *Moringa peregrina* populations based on seed storage proteins

H. Mirzaie-Nodoushan[*1], Z. Nazari[2], F. Asadicorom[3], and G.R. Bakhshi-Khaniki[4]

1*-Corresponding author, Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO),, Tehran, I.R. Iran. Email: nodoushan2003@yahoo.com
2- M.Sc., Payam Noor University, Tehran, I.R. Iran
3 –M.Sc. Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran
4- Prof., Payam Noor University, Tehran, I.R. Iran

Received: 21.12.2015 Accepted: 08.02.2016

Abstract

Moringa peregrine (Forssk.) Fiori is a valuable species with a vast utilization in nutritional, medicinal, health, and industrial aspects which is under genetic erosion and extinction threat both in Iran and all around its global habitats. Due to its importance and roles, study on its biological aspects such as genetic variation may accelerate its development. For this reason, 11 single trees of four different plant populations of the species, collected from South part of Baluchestan province, of Iran, were used in this study. Extracting, seed storage proteins of the genotypes, SDS-PAGE method of electrophoresis was used to evaluate genetic variation between and within the populations on macromolecule protein level. Performing electrophoresis, fixation and staining the protein bands, presence, or absence of the protein bands were investigated. Regarding the protein bands, based on qualitative criterion, there were not remarkable differences between the studied genotypes and regions to be used for discriminating between the studied genotypes and populations. In contrast with the qualitative differences there were plenty of quantitative differences between the studied genotypes and populations. Since gene flow and genetic interchange between the natural populations through seed transfer is rarely happening in the nature, it is expected to have plant populations with less interchange and more genetic differentiation.

Keywords: Electrophoresis, genetic variation, *Moringa peregrina*, protein band

www.SID.ir