بررسی مقایسه‌ای پروتئین‌های بذر ۱۰ ژنوتیپ بادام زراعی (*Amygdalus dulcis* (L.) Miller) و ۲ گونه بادام خودروی (*A. scoparia* Spach و *A. lycioides* Spach) در استان اصفهان

مهدی یوسفی

گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور اصفهان

چکیده

روابط بین ۱۰ ژنوتیپ زراعی بادام (*Amygdalus dulcis* (L.) Miller) (ژنوتیپ‌های محب علی، صفری، یارالهی، مامایی، ربیع، کبابی، تاجری، حاج میرزایی، تلخه و آذر) و ۲ گونه بادام خودروی (گونه‌های *Amygdalus lycioides* var. *horida* و *A. scoparia*) از استان اصفهان، از طریق آنالیز پروتئین‌های ذخیره‌ای دانهٔ آنها بررسی شد. در مجموع ۱۸ باند پروتئینی مشاهده شد که برخی از آنها در بین تمام گونه‌ها و ژنوتیپ‌های بادام مشترک بودند. برخی از این باندها فقط در یک گونه یا یک ژنوتیپ زراعی وجود داشتند، در حالی که تعدادی دیگر از آنها تنها در ژنوتیپ‌های زراعی مشاهده شدند و گونه‌های خودروی فاقد آنها بودند. داده‌های حاصله از طریق آنالیز خوشه‌ای با روش UPGMA و ضریب فاصله اقلیدسی و نیز از طریق آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) بررسی شدند. نتایج نشان داد که برخی از این ژنوتیپ‌های محلی از لحاظ الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر بسیار بهم شبیهند. از جمله روابط نزدیکی بین ژنوتیپ‌های صفری، یارالهی و مامایی و نیز بین ژنوتیپ‌های تاجری، حاج میرزایی و کبابی مشاهده شد. بین گونه‌های خودروی و ژنوتیپ‌های زراعی نیز الگوی پروتئینی متفاوتی مشاهده گردید. در این پژوهش نقش پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در نشان دادن تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های بادام مورد بحث قرار گرفت.

کلمات کلیدی: اصفهان، الکتروفورز، بادام، پروتئینهای بذر، ژنوتیپها.

مقدمه

جنس بادام (*Amygdalus* L. and *Prunus* L.) متعلق به تیره گل سرخ (Rosaceae L.) دربردارندهٔ چندین گونهٔ درختچه‌ای است که به صورت خودروی در مناطق با اقلیم مدیترانه‌ای می‌رویند و ارقام متعددی از آنها نیز در مناطق مختلف کشت می‌شوند (Browicz and Zohary, 1996; Ladizinsky, 1999). ایران یکی از رویشگاه‌های عمده گونه‌های خودروی بادام و نیز از مراکز عمده کشت ارقام زراعی این گیاه در دنیا است و بادام یکی از محصولات صادراتی کشور به شمار می‌رود (FAO, 2002). بیش از ۳۰ ژنوتیپ و واریته زراعی بادام (*Amygdalus dulcis* (L.) Miller) در بخش‌های مختلف ایران کاشته می‌شوند (Rahemi, 2002; Vezvaei, 2003). همچنین بیش از ۲۱ گونه و ٦ دورگه طبیعی بادام نیز به صورت خودروی در نقاط مختلف کشور می‌رویند که برخی از آنها از لحاظ صفات ریخت‌شناختی، به بادام‌های کاشته شده شباهت دارند (خاتمساز، ۱۳۷۰؛ Browicz, 1969). ارزیابی روابط بین گونه‌های خودروی و ژنوتیپ‌های زراعی بادام از جنبه‌های مختلف، از جمله شناخت صفات مطلوب آنها و استفاده از آنها در برنامه‌های به نژادی، دارای اهمیت زیادی است (Cook, 1984; Vezvaei, 2003). یکی از روش‌های این ارزیابی، بررسی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر است.

*e.mail:muosofi@yahoo.com

در این روش، باندهای حاصل از الکتروفورز پروتئین‌های بذر روی ژل پلی آکریل آمید، برای ارزیابی و تفسیر تنوع ژنتیکی و روابط رده‌بندی بین گیاهان مورد استفاده قرار می گیرند (Andrews, 1993; Buth, 1984; Cook, 1984; Ladizinsky, 1983; Ladizinsky and Hymowitz, 1979). از این روش تاکنون برای بررسی گیاهان مختلف استفاده شده است. برای مثال، Sathe و همکاران (۲۰۰۱)، برای تجزیه و تحلیل ژنوتیپ‌ها و دو رگه‌های بادام از این روش استفاده کرده‌اند. Dowidar و همکاران (۲۰۰۳) نیز تاکسون‌هایی از تیره گل سرخ را با این روش مورد مطالعه قرار داده‌اند و اهمیت آنرا در بررسی روابط رده‌بندی گونه‌ها و جنس‌های مختلف این تیره نشان داده‌اند.

استان اصفهان یکی از مراکز کشت بادام در کشور محسوب می‌شود (اداره آمار جهاد کشاورزی، ۱۳۷۷؛ فیضی، ۱۳۸۰) و شهرستان نجف‌آباد، واقع در غرب شهر اصفهان یکی از مناطق این استان است که در زمینهٔ کشت ژنوتیپ‌های محلی بادام سابقهٔ زیادی دارد. رایج‌ترین بادام‌های این شهرستان عبارتند از: ژنوتیپ‌های محلی محب علی، صفری، یارالهی، مامایی، ربیع، تلخه، تاجری، کبابی و حاج میرزایی. در سال‌های اخیر ارقام دیرگل بادام نیز در این منطقه وارد شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند که یکی از آنها بنام آذر واریتهٔ اصلاح شده است و جزو ارقام دیرگل بشمار می‌آید (اداره آمار جهاد کشاورزی، ۱۳۷۷). در ارتفاعات اطراف این شهرستان گونهٔ *A. lycioides* Spach var, *horrida* (Spach) Browicz نیز به صورت خودرو می‌روید. همچنین پایه‌هایی از گونهٔ *A. scoparia* Spach در برخی نقاط این منطقه کاشته شده است. از این درختچه‌ها به عنوان پایه، جهت پیوند بادام استفاده می‌شود (فیضی، ۱۳۸۰). عالم (۱۳۸۵) ویژگی‌های ریخت‌شناختی، تشریحی و دانه گرده این ژنوتیپ‌ها و دو گونه خودروی را بررسی کرده است. بر اساس نتایج بدست آمده، این ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات مورفولوژیکی، به ویژه از لحاظ اندازه و وزن میوه‌هایشان، که یکی از معیارهای مهم شناسائی آنها است، تفاوت‌های آشکاری داشته و از تنوع قابل توجهی برخوردارند. هدف پژوهش حاضر، ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط رده‌بندی این ژنوتیپ‌ها و دو گونه خودروی از طریق بررسی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر آنها است. به منظور شناخت و پی بردن به تنوع بین ژنوتیپ‌ها، ارقام و واریته‌های مختلف گیاهان، روش‌های متفاوتی مرسوم بوده است. Vezvaei (۲۰۰۳) تنوع ایزوزیمی را در بین تعدادی از بادام‌های ایران، از جمله *Amygdalus lycioides* و *A. scoparia* مورد بررسی قرار داده است. Talaei & Imani (۱۹۸۸) نیز از صفات مورفولوژیکی دانه گرده به عنوان شاخص تنوع واریته‌های محلی بادام استفاده نموده‌اند. Siami و همکاران (۲۰۰۲) برخی از ترکیبات و پروتئینهای کل ۷ گونه بادام خودروی در ایران را مطالعه نموده‌اند. با وجود پژوهش‌های متعددی که در مورد بادام‌های ایران انجام شده، در مورد آنالیز پروتئینی ارقام محلی بادام در استان اصفهان تاکنون پژوهشی گزارش نشده است.

مواد و روشها

بذرهای۱۰ ژنوتیپ زراعی و ۲ گونه بادام خودروی از استان اصفهان از اوایل تیرماه تا اواسط مرداد ماه سال ۱۳۸٤ جمع‌آوری گردید. مشخصات این بادامها در جدول ۱ ارائه شده است. الکتروفورز پروتئینها روی ژل پلی آکریل آمید، در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS- PAGE) بر طبق روش Dowidar و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد. برای استخراج پروتئین‌های کل و تهیه عصاره پروتئینی، بذرها در هاون چینی بطور کامل سائیده شده و به صورت پودر در آمدند. ۰/۵ گرم از پودر بدست آمده با ۵ میلی لیتر بافر Tris-EDTA (pH ۸) به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق بر روی دستگاه لرزاننده (شیکر) مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۸ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد تا پروتئین‌های آن بطور کامل حل شود و بعد از آن به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید و محلول بالائی آن برای انجام الکتروفورز مورد استفاده قرار گرفت. ژل بالائی با غلظت ٤ درصد و ژل زیرین با غلظت ۱۰ درصد تهیه شد. پس از آماده‌سازی دستگاه الکتروفورز، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی هر یک از نمونه ها با ۱۰۰ میکرولیتر بافر نمونه، حاوی سدیم دودسیل سولفات (SDS) مخلوط شده و به

مدت ۳ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند و پس از سرد شدن سانتریفوژ شدند. از هر نمونه ۵۰ میکرولیتر از محلول بالائی سانتریفوژ شده، درون چاهک‌های ژل تزریق شد و روی آنها با بافر الکترود پر گردید. الکتروفورز با شدت ۳۰ آمپر و ولتاژ ۱۲۰ ولت برای ژل بالائی و ولتاژ ۲۰۰ ولت برای ژل زیرین انجام شد و تا رسیدن نشانه رنگی به پائین ژل ادامه یافت. بعد از اتمام الکتروفورز، ژل به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق با محلول کوماسی بلو رنگ‌آمیزی شد و پس از آن به مدت یک شب در محلول رنگ بر قرار گرفت و پس از ظاهر شدن باندهای پروتئینی، از آن عکس گرفته شد. داده‌های حاصله از طریق آنالیز خوشه‌ای و آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) مورد بررسی قرار گرفتند. در این آنالیزها، هر باند پروتئینی به عنوان یک صفت کیفی در نظر گرفته شد و وجود آن برای هر نمونه با کد ۱ و نبود آن با کد صفر مشخص گردید (Sheidai, 1999).

آنالیزهای آماری با برنامه نرم‌افزاری STATISTICA (Statsoft, 1993)، روش UPGMA و ضریب فاصلهٔ اقلیدسی انجام شد. نمونه‌هایی از بذرهای مورد بررسی در هرباریوم دانشگاه پیام نور نگهداری می‌شود.

جدول ۱: بادام‌های مورد مطالعه، علائم اختصاری و محل جمع آوری آنها

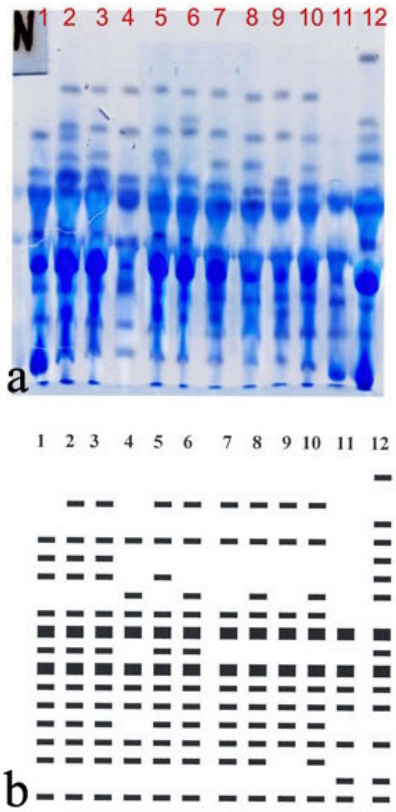
ردیف	نام محلی ژنوتیپها و گونه‌ها	علامت اختصاری	محل جمع آوری
۱	محب علی	MOH	محل جمع آوری بذر تمام ارقام زراعی:
۲	صفری	SAF	نجف آباد، روستای ملک آباد، ارتفاع از سطح دریا: ۱۶۹۵ متر،
۳	یارالهی	YAR	موقعیت جغرافیائی: '۳۹/۲۲۹؟۳۲شمالی و '۱۹/۱۴۱،°۵۱ شرقی،
٤	ربیع	RAB	تاریخ جمع آوری: مردادماه ۱۳۸٤.
۵	مامائی	MAM	
٦	تلخه	TAL	
۷	حاج میرزائی	HAG	
۸	کبابی	KAB	
۹	تاجری	TAG	
۱۰	آذر	AZA	
۱۱	*A. lycioides*	LYC	نجف آباد،ارتفاعات شمالی،۱۷۹۰متر، ۱۳۸٤/٤/۲۰
			'۴۲/۱۰۳؟۳۲شمالی و '۲۳/۲۳٤،°۵۱شرقی
۱۲	*A. scoparia*	SCO	نجف آباد،ویلاشهر،۱٦۵۳متر،۱۳۸٤/٤/۳۰
			'۳۹/٦۸۷؟۳۲شمالی و '۲٤/۵۳۲،°۵۳شرقی

نتایج

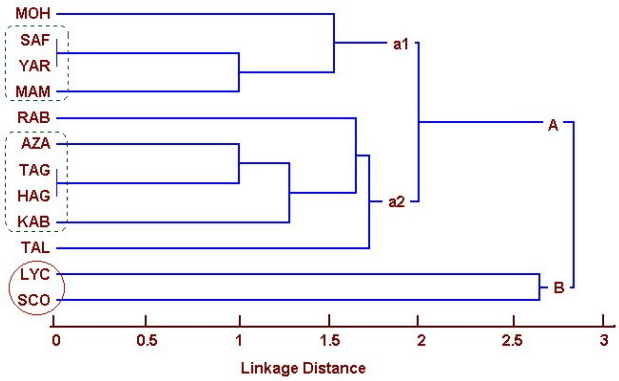
تصویر ژل پلی آکریل آمید حاوی باندهای پروتئینی بادام‌های مورد مقایسه و نمودار ترسیمی آن در شکل ۱ نشان داده شده و داده‌های مربوط به این باندها نیز در جدول ۲ خلاصه شده است. همان گونه که مشاهده می‌شود، پروتئین‌ها متناسب با وزن ملکولی خود از بالا به پائین، از هم جدا شده و باندهای متنوعی را روی ژل پلی آکریل آمید به وجود آورده‌اند. باندهای بالائی دارای وزن مولکولی سنگین‌تری هستند و باندهای پائینی از وزن ملکولی سبکتری برخوردارند. شدت رنگ پذیری و تراکم باندها نیز یکنواخت نیست. هرچه مقدار پروتئین‌ها بیشتر باشد، باندهای متراکم‌تری را تشکیل می‌دهند. در مجموع ۱۸ ردیف از باندهای متفاوت تشکیل شده است که کمترین تعداد آنها در *A. lycioides* (۷ باند) و بیشترین آنها در *A. scoparia* (۱٤ باند) مشاهده می‌شود. باندهای ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۵ و ۱۸ در تمام نمونه‌ها وجود دارند. این باندها احتمالاً مربوط به پروتئین‌های

شاخص جنس بادام هستند. باندهای ۹ و ۱۱ از سایر باندها متراکم تر و پهن‌ترند. در باندهای بالائی ژل که مربوط به پروتئین‌های با وزن ملکولی سنگین‌ترند، تنوع بیشتری دیده می‌شود. باندهای ۲، ۸، ۱٤ و ۱٦ در تمام یا در اکثر ژنوتیپ‌های زراعی وجود دارند، ولی دوگونهٔ بادام خودروی، فاقد این باندها هستند. این باندها نیز می‌توانند معرف پروتئین‌های ژنوتیپ‌های زراعی تلقی شوند. باند ۱۷ فقط در ۲ گونهٔ خودروی وجود دارد و بادام‌های زراعی فاقد آن هستند. باندهای ۱ و ۳ نیز فقط در گونهٔ *A. scoparia* دیده می‌شوند. نمودار درختی (دندروگرام) حاصله از آنالیز خوشه‌ای بر روی داده‌های جدول ۲ نشان می‌دهد که بادام‌های مورد بررسی، در دورترین فاصله، به دو خوشه (کلاستر) اصلی تقسیم می‌شوند (شکل ۲، خوشه‌های A و B). خوشه A شامل تمام ژنوتیپ‌های زراعی و گروه B شامل ۲ گونه خودرو است. خوشه A خود به دو گروه فرعی a_1 و a_2 تقسیم می‌شود. گروه a_1 شامل ژنوتیپ‌های محب علی، صفری، یارالهی و مامایی است که در ۱۲ باند مشترکند. بادام محب علی در مقایسه با ۳ ژنوتیپ دیگر باند ۲ را ندارد و در یک انشعاب جدا قرار گرفته است. بادام‌های صفری و یارالهی الگوی پروتئینی مشابهی دارند و هر دو در یک انشعاب مشترک قرار گرفته‌اند. بادام ربیع نیز نسبت به ۲ ژنوتیپ صفری و یارالهی فاقد باند ۵ است و با آن دو در یک گروه قرار گرفته است. گروه a_2 نیز شامل ژنوتیپ‌های ربیع، تلخه، تاجری، حاج میرزایی، آذر و کبابی است. بادام‌های این گروه به استثنای بادام تلخه، در مقایسه با گروه a_1 باندهای ۵، ٦ و ۱۰ را ندارند. ژنوتیپ‌های ربیع و تلخه در این گروه الگوی پروتئینی متفاوتی دارند و مجزا از بادام‌های دیگر قرار گرفته‌اند. ژنوتیپ ربیع فاقد باندهای ۲ و ۱٤ است و در ژنوتیپ تلخه نیز باند ۱۰ تشکیل شده است. در صورتی که سایر بادام‌های این گروه فاقد این باندند. بادام‌های حاج میرزایی و تاجری الگوی پروتئینی مشابهی دارند و بنابراین، در یک انشعاب مشترک قرار گرفته‌اند. ژنوتیپ آذر نیز که تفاوت آن با این ۲ ژنوتیپ دیگر در نداشتن باند ۷ است در همان دسته واقع شده است. ژنوتیپ کبابی نیز فاقد باندهای ۷ و ۱٦ است. بر اساس این داده‌ها، گونه‌های خودروی بادام از ژنوتیپ‌های زراعی آن کاملاً تفکیک شده‌اند.

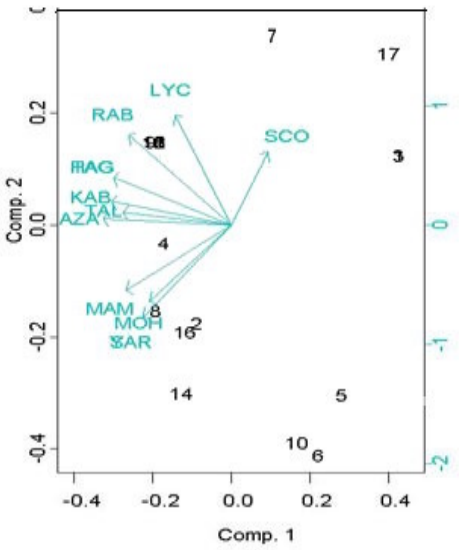
آنالیز مؤلفه‌های اصلی نیز، نتایج بدست آمده را تایید می‌کند (شکل ۳ و جدول ۳). در این آنالیز، در مجموع سه مؤلفه اصلی، در بردارندهٔ ۸۲ درصد واریانس باندهای پروتئینی هستند. مؤلفه اول بیشترین همبستگی را با باندهای ۱، ۲، ۳، ۸، ۱٤، ۱٦ و ۱۷ دارد. این مؤلفه تمام ژنوتیپ‌های زراعی مورد مطالعه، به جز ژنوتیپ محب علی را از گونه‌های خودروی جدا نموده است. مؤلفه دوم نیز بیشترین همبستگی را با باندهای ۵، ٦ و ۱۰ دارد و ژنوتیپ محب علی را از سایر ژنوتیپ‌ها و گونه‌های خودروی مجزا نموده است. مؤلفه سوم تنها با باند ۷ بیشترین همبستگی را نشان می‌دهد و دو گونهٔ خودروی را از ژنوتیپ‌های زراعی جدا نموده است.



شکل ۱: باندهای پروتئینی بادام‌های مورد بررسی روی ژل پلی آکریل آمید، a) تصویر ژل؛ b) نمودار ترسیمی آن. شماره باندها منطبق با شماره ردیف بادامها در جدول ۱ است.



شکل ۲: نمودار درختی (دندروگرام) مربوط به آنالیز خوشه ای با روش UPGMA و ضریب فاصله اقلیدسی. علائم اختصاری بادام‌های مورد بررسی در جدول۱ شرح داده شده است.



شکل ۳: پراکندگی بادامهای مورد بررسی نسبت به دو مؤلفه اول و دوم (Comp. 1 & 2) در آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA). علائم اختصاری بادام‌ها در جدول ۱ شرح داده شده است. اعداد پراکنده داخل نمودار نیز شماره باندهای پروتئینی را نشان می دهد.

جدول ۲: داده‌های مربوط به باندهای پروتئینی بادام‌های مورد مطالعه. کد ۱ حضور و کد صفر عدم حضور باندها را برای هر یک از تاکسون‌ها نشان می‌دهد. علائم اختصاری بادام‌ها مطابق جدول ۱ است.

بادامها > / شماره باندها	MOH	SAF	YAR	RAB	MAM	TAL	TAG	AZA	KAB	HAG	LYC	SCO
۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱
۲	۰	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰
۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱
٤	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱
٥	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱
٦	۱	۱	۱	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱
۷	۰	۰	۰	۱	۰	۱	۰	۱	۰	۱	۰	۱
۸	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰
۹	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۰	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۱
۱۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۲	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۳	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱٤	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰
۱٥	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱٦	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۰	۰
۱۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱
۱۸	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱

جدول ۳: واریانس باندهای پروتئینی (باندهای۱ تا ۱۸) روی مؤلفه‌های اول تا سوم در آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA). باندهایی که واریانس بزرگتر از ۰/۷ دارند و با ستاره مشخص شده‌اند، بیشترین همبستگی را با هر یک از مؤلفه‌ها دارند. واریانس باندهائی که در تمام بادامها وجود دارند، صفر است.

شماره باند	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه سوم
۱	٭۰/۷۸۳۷۵۵	-۰/۳۵٤٦۷٤	-۰/۳۲۲۹۵۷
۲	٭-۰/۷۲۸۹۵۳	-۰/۱۳۱۲٦۰	۰/۱٦۳۰٦٦
۳	٭۰/۷۸۳۷۵۵	-۰/۳۵٤٦۷٤	-۰/۳۲۲۹۵۷
٤	-۰/٤۸۱۱۸۰	-۰/٤۸۷٦۹۷	-۰/٦۱۱۲۲۱
۵	-۰/۲۷٦۹۷۲	٭-۰/۸۱۹۳۰٦	۰/۰۰۵۱٦٦
٦	۰/۱۷۱٦٦۵	٭-۰/۸۹۳۰٦٤	۰/۰۷٦۰۷۳
۷	۰/۱٦۱۵۳۰	۰/۲٤۸٦۰٦	٭-۰/۷۸۲۷۰٦
۸	٭-۰/۹۳۸۱۰۱	-۰/۰۹۸٦۵۲	-۰/۲۱۳۷۸۳
۹	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰
۱۰	۰/۰۷٦۷۵۳	٭-۰/۸۷۰۳۹۱	-۰/۰۰۵۲۳۷
۱۱	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰
۱۲	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰
۱۳	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰
۱٤	٭-۰/۸۲۲۵۵۹	-۰/۳۵۳۸۰۵	۰/۲۲۵۱۲۲
۱۵	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰
۱٦	٭-۰/۷٤۵۳۵۸	-۰/۱۹٦۳۰۱	-۰/۳۲۵٦۰۸
۱۷	٭-۰/۹۳۸۱۰۱	-۰/۰۹۸٦۵۲	-۰/۲۱۳۷۸۳
۱۸	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰۰۰
جمع	۵/۱۲۲٤٦۹	۳/۱۵۵٤۹۹	۱/۸۸٦۱۹٤

بحث

بادام حاوی پروتئین‌های ذخیره‌ای نسبتاً زیادی است که بطور میانگین در حدود ۲۳/۰۲ تا ۲۳/۹۸ درصد وزن آن را تشکیل می‌دهند (Saura-Calixto et al., 1981). Siani و همکاران (۲۰۰۲) مقدار پروتئین‌های بذر در گونهٔ *A. lycioides* var. *lycioiaes* را در حدود ۳۲/۵۵ درصد وزن آن گزارش کرده‌اند. همچنین، مقدار این پروتئین‌ها در ژنوتیپ‌های زراعی و گونه‌های خودروی، بسیار متغیر است (Barbera et al., 1994; Esteban and Lopez, 1985). با توجه به این فرض که پروتئین‌ها بطور مستقیم یا غیرمستقیم، فرآورده‌های ژن می باشند، تفاوت در الگوی تنوع آنها نمایانگر اختلاف وراثتی در بین جمعیت‌ها، ژنوتیپ‌ها و گونه‌های مورد مقایسه است و بررسی الکتروفورزی می‌تواند تنوع و روابط ژنتیکی بین آنها را نشان دهد. نتایج این پژوهش نیز مؤید آن است. Dawidar و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در تیره گل سرخ مجموع باندهای پروتئینی برای بادام (*Prunus dulcis* یا *Amygdalus dulcis*) را ۱۸ باند گزارش کرده‌اند. در پژوهش حاضر نیز، تعداد ۱۸ باند مشاهده شد که با یافته‌های این پژوهشگران مطابقت دارد. بررسی این باندها نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های زراعی مورد مقایسه، نسبت به ۲ گونه خودروی، الگوی الکتروفورزی متفاوتی دارند. بین این ژنوتیپ‌ها نیز تفاوت‌هایی دیده می‌شود که باعث گروه‌بندی آنها در آنالیز خوشه‌ای و مؤلفه‌های اصلی شده است (شکل‌های ۲ و ۳). برای مثال، ژنوتیپ ربیع که به جد مامائی نیز معروف است، الگوی پروتئینی متفاوتی از ژنوتیپ مامایی دارد، در حالی که از لحاظ ظاهری، این ۲ ژنوتیپ بسیار بهم شبیهند و تشخیص بادام‌های آنها از یکدیگر، برای افراد عادی مشکل است. برعکس، برخی از این ژنوتیپ‌های محلی، الگوی پروتئینی مشابهی دارند. از جمله بادام‌های صفری و یارالهی که به هم شبیهند و در نمودار مربوط به آنالیز خوشه‌ای در یک جایگاه مشترک قرار گرفته‌اند. بادام‌های تاجری و حاج میرزایی نیز وضعیت مشابهی دارند. این ژنوتیپ‌ها از بادام‌های محلی هستند که تفاوت‌های ظاهری اندکی با یکدیگر دارند و فقط

باغداران باتجربه قادر به تشخیص آنها هستند. نکته جالب در این بررسی قرار گرفتن ژنوتیپ‌های دیرگل و ژنوتیپ‌های زودگل در دو خوشهٔ جداگانه است. ژنوتیپ‌های محب علی، صفری، یارالهی و مامایی از بادام‌های زودگل این منطقه بشمار می‌آیند، در حالی که ژنوتیپ‌های تلخه، تاجری، حاج میرزایی و کبابی دیرگلترند. ژنوتیپ آذر نیز که یک بادام دورگه دیرگل است (اداره آمار جهاد کشاورزی، ۱۳۷۷)، در این گروه قرار دارد. نتایج حاصله از بررسی مورفولوژیکی، تشریحی و آنالیز خوشه‌ای روی ۳۵ صفت کمی و کیفی این ژنوتیپ‌ها که توسط عالم (۱۳۸۵) انجام شده به مقدار زیادی با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. در هر دو بررسی ژنوتیپ‌های زراعی از گونه‌های خودروی تفکیک شده‌اند. در بین ژنوتیپ‌های زراعی نیز در هر دو روش بادام محب علی از سایر بادام‌ها متمایز است. با این حال، در این مقایسه تفاوت‌هایی نیز به چشم می‌خورد. از جمله اینکه براساس صفات ریخت‌شناختی، بادام حاج میرزایی با بادام‌های صفری و یارالهی قرابت بیشتری را نشان می‌دهد، در حالی که براساس الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها این ژنوتیپ با ژنوتیپ‌های تاجری و کبابی در یک گروه قرار گرفته‌اند (شکل ۲). این تفاوت‌ها حاکی از تفاوت در ساختار ژنتیکی این ژنوتیپ‌ها است.

ژنوتیپ‌های زراعی بادام در واقع واریته‌هایی از گونه *A. dulcis* (یا بر طبق نظر برخی گیاه‌شناسان، گونهٔ *Prunus amygdalus* و یا *P. dulcis*) هستند که به طرق مختلف، از جمله دورگه‌گیری بوجود آمده‌اند و علاوه بر داشتن تفاوت‌های ریخت‌شناختی، از لحاظ صفات شیمیایی، مولکولی و ژنتیکی نیز با هم متفاوتند (Bortiris et al., 2001; Browicz and Zohary, 1996; Mowery and Werner, 1990; Siami et al., 2002). نتایج این پژوهش نیز نشان می‌دهد که برخی از این ژنوتیپ‌ها که نامهای محلی متفاوتی دارند، از ساختار ژنتیکی یکسان یا تقریباً یکسانی برخوردارند. بنابراین قبل از استفاده از آنها برای مقاصد مختلف، از قبیل دورگه‌گیری و به نژادی، می‌بایستی به این شباهت‌ها یا تفاوت‌ها توجه نمود. ۲ گونه بادام خودروی مورد مقایسه در پژوهش حاضر نیز، دارای باندهای پروتئینی متفاوتی هستند. Vazvaei (۲۰۰۳) تفاوت ایزوزیمی این دوگونه را قبلاً نشان داده است. بر اساس صفات ریخت‌شناختی نیز، این دو گونه با هم تفاوت زیادی دارند. *A. scoparia* به زیرجنس *Amygdalus* تعلق دارد، در حالی که *A. lycioides* گونه‌ای از زیرجنس *Dodecandra* است (خاتمساز، ۱۳۷۰؛ Browicz, 1969). وجود باندهای پروتئینی مشترک بین این دوگونه و ژنوتیپهای زراعی نمایانگر قرابت آنها است.

نتیجه‌گیری نهایی

براساس داده‌های این پژوهش نتیجه‌گیری می‌شود که بین ژنوتیپ‌های زراعی بادام قرابت بیشتری نسبت به گونه‌های خودرو مورد بررسی وجود دارد که می‌تواند ناشی از منشأ مشترک آنها باشد. تنوع درون این ژنوتیپ‌ها حاصل دورگه گیری‌های متعدد است که بطور طبیعی یا مصنوعی در بین آنها رخ داده است. تعیین دقیق ساختار پروتئین‌های اختصاصی هر یک از این ژنوتیپ‌های زراعی و گونه‌های خودروی و کشف نقش آنها در سازگاری‌های بوم شناختی، می‌تواند برای تولید ارقام زراعی جدید (به نژادی)، مورد استفاده قرار گیرد. بادام‌های خودروی ژنهای با ارزشی دارند که آنها را قادر ساخته شرایط سخت را تحمل نمایند (Barbera et al., 1994). بنابراین، شناخت تنوع ژنتیکی آنها دارای اهمیت زیادی است، در صورتی که پروتئین‌های بذر تعداد بیشتری از گونه‌های خودروی و ژنوتیپ‌های زراعی بادام، مورد بررسی قرار گیرد، ارزیابی روابط بین آنها نیز دقیقتر خواهد بود. در پژوهش حاضر نشان داده شد که می‌توان از طریق داده‌های الکتروفورزی پروتئین‌های بذر، تنوعات بین ژنوتیپ‌های زراعی و گونه‌های خودروی بادام را مشخص نمود، ولی همان‌طور که Andrews (۱۹۹۳) و LadZinski (۱۹۸۳) خاطر نشان کرده‌اند، می‌بایستی به این نکته توجه داشت که پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، با وجود اینکه از صفات ثابت و ژنتیکی گیاه محسوب می‌شوند، در عین حال، از متغیرهای محیطی و اکولوژیکی نیز بی‌تأثیر نیستند و این مساله یکی از محدودیت‌های استفادهٔ وسیع از تکنیک‌های الکتروفورزی به شمار می‌آید.

سپاسگزاری

از همکارن محترم، آقایان مجید مهدیه و رسول قاسمی، که در جمع‌آوری نمونه‌ها و انجام الکتروفورز کمک‌های شایانی نمودند و نیز از همکاری‌های سرکار خانم اعظم عیدی و آقای امیرعباس امینی، کارشناسان محترم آزمایشگاه و از آقای غلامرضا کیهانیان، که امکان دسترسی و مطالعه روی ژنوتیپ‌های محلی بادام را فراهم نمودند، سپاسگزاری می‌نمایم. از معاونت و شورای محترم پژوهشی دانشگاه پیام نور که در تصویب و تأمین هزینه‌های مالی طرح مساعدت نمودند، نیز سپاسگزارم.

منابع

اداره کل آمار و اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی (۱۳۷۷). خشکبار، آمار و مرایا. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، صفحات ۱۰۱ تا ۱۵۳.

خاتمساز، م. (۱۳۷۰). تیره گل سرخ (Rosaceae)، فلور ایران. شماره ٦، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، صفحات ۲۷٤ تا ۳۱۵.

عالم، ف.ز. (۱۳۸۵). بررسی تاکسونومیکی گونه‌های وحشی و کولتیوارهای زراعی بادام در استانهای اصفهان و چهار محال و بختیاری، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور، مرکز تهران، ۷۰ صفحه.

فیضی، م.ت. (۱۳۸۰). معرفی بادام کوهی (*Amygdalus scoparia*) و برخی ویژگی‌های اکولوژیکی آن در استان اصفهان، مجموعه مقالات دهمین کنفرانس سراسری زیست‌شناسی ایران، صفحات ٤۷۷ تا ٤۸۰.

Andrews, A.T. (1993). Electrophoresis, theory, techniques and biochemical and clinical applications, Claredon Press, Oxford.

Barbera, G., Marco, L. and Schirra, M. (1994). Effects of rootstock on productive and qualitative response of two almond varieties, Acta Horticulturae, 373: 129- 134.

Bortiris, S. O., Sang-Hun, J. J., Beggtt, S., Granger, A., Weeks, C., Buckinghan, M., Potter, D., and Parfitt, D. (2001). Phylogenetic and systematics of *Prunus* (*Rosaceae*) as determined by sequence analysis of its and the chloroplast trn-trnf spacer DNA, Systematic Botany, 26(4): 797- 804.

Browicz, K. (1969). *Amygdalus*. L. In: K. H. Rechinger (ed.), Flora Iranica, 66: 166- 187, Graz., Austria.

Browicz, K. and Zohary, D. (1996). the genus *Amygdalus* L. (Rosaceac): species relationship, distribution and evolution under domestication, Genet. Resour. Crop Evol. 43: 229- 247.

Buth, D. G. (1984). The application of electrophoretic data in systematic studies, Ann. Ecol. Syst. 15: 501- 522.

Cook, R. T. (1984). The characterization and identification. of crop cultivars by electrophoresis, Electrophoresis, 5:59- 72.

Dowidar, A. E., Kamel, E. A., Ahmed, A. M., Loutfy, M. H. A. and Hafez, H. H. L. (2003). Studies on Rosaceae *II*- SDS-PAGE seed protein electrophoresis and its significance in the taxonomy of the family, Pakistan Journal of Biological sciences, 6 (21): 1820- 1829.

Esteban, R. M. and Lopez, A. F. J. (1985). Protein extractability of almond (*Prunus amygdalus*) seeds, Journal of the Science of Food and Agriculture, 36(6): 485- 490.

FAO, (2002). FAO statistical databases: Agriculture: http:// apps.fao.org.

Ladizinsky, G. (1983). Study of evolution problems by means of seed proteins. In: Seed proteins, biochemistry, genetics, nutritive value. (W. Gohschalk and H.P. Muller. eds.) pp. 481-498. Mortinus Nighoff. Dr. W. Junk Publishers, The Hagues, London.

Ladizinsky, G. (1999). On the origin of almond, Genet. Resources Crop Evol. 46: 143-147.

Ladizinsky, G. and Hymowitz, T. (1979). Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies, Theo. App. Genet., 54: 145-151.

Mowery, B. D. and Werner, D. J. (1990). Phylogenetic relationship among species of *Prunus* as inferred by isozyme markers, Theoritical and Applied Genetics, 80(1): 133-189.

Rahemi, A. R. (2002). The development of almond orchards in Iran, Acta Hort. (SHS), 591:177-180.

Sathe, S.K., Teaber, S.S., Gradziel, T.M. and Roux, K.H. (2001). Electrophoretic and immunological analysis of almond (*Prunus dulcis* L.) genotypes and hybrids, J. Agr. Food. Chem. 49: 2043-2052.

Saura-Calixto, F., Bauza, M., Martinez, D. F. and Argamenteria, A. (1981). Aminoacids, sugars and inorganic elements in the sweet almond (*Prunus amygdalus)*, J. Agric. Food. Chem. 29: 509-511.

Sheidai, M., Hamta, A., Jaffari., A. and Noori Dalooi, M. R. (1999). Morphometric and seed protein studies of *Trifolium* species and cultivars in Iran, Plant Genet. Res. Newsl. , 120: 52-54.

Siami, A., Heidari, R. and Mohseni, M. (2002). Comparative study of amygdaline, fat and total protein of 7 species of wild almond in west Azarbaidjan (Iran), Acta Hort. (ISHS), 591:181-187.

Statsoft, Inc. (199). STATISTICA for Windows, Version 4.5.

Talaei, A. and Imani, A. (1998). Morphology of pollen grains as an index for identification of local Iranian almond varieties, Acta Hort. (ISHS), 470: 280-285.

Vezvaei, A. (2003). Isozyme diversity in Iranian almond, Proc. *XXVT* Acta Hort. (ISHS), 622: 451-456.

Comparative analysis of seed proteins in 10 cultivated genotypes (*Amygdalus dulcis* (L.) Miller) and 2 wild almonds (*A. scoparia* Spach & *A. lycioides* Spach) in Esfahan province

Yousefi, M.
Department of Biology, Payam Noor University, Esfahan, Iran

Abstract

Seed protein analysis was performed among 10 cultivated genotypes (*Amygdalus dulcis* (L.) Miller genotypes: Moheb Ali, Safari, Yarollahi, Mamaei, Rabee, Kababi, Tageri, Hag Mirzaei, Talkheh and Azar) and 2 wild species of almond (*Amygdalus scoparia* Spach & *A. lycioides* Spach var. *horrida* (Spach) Browicz), from Esfahan province, in order to illustrate their interrelationships. All together, 18 protein bands were obtained, some of which were common in all species and cultivated genotypes. Some bands were occurred only in a single cultivated genotype or species, while, some others occurred in all local genotypes, but not in the wild species. The obtained data were analyzed through cluster analysis via UPGMA method and Euclidean distance coefficient, and through Principle Components Analysis (PCA). The results revealed that some local cultivated genotypes were similar, such as a close relationship was detected among the genotypes Safari, Yarollahi and Mamaei, as well as among Tageri, Hag Mirzaei and Kababi. Different patterns of protein bands were also observed between the genotypes and the wild species. As a result, the role of seed protein criteria in the genetic variations among studied genotypes and wild almond was discussed.

Keywords: Almond (*Amygdalus dulcis*), Esfahan province, Electrophoresis, Genotypes, Seed proteins.