

## مطالعه تنوع درون گونه‌ای جمعیت‌های گونه لور (*Carpinus orientalis* Mill) با استفاده از الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر<sup>۱</sup>

اباصلت حسین‌زاده کلاگر<sup>۲\*</sup>، مهسا رزاز<sup>۳</sup>، علیرضا نقی‌نژاد<sup>۴</sup>، آرمان محمودی اطاقوری<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۳

تاریخ تصویب: ۹۴/۸/۳۰

### چکیده

اهمیت اکولوژیکی، اکوتوریستی و حفاظت از طبیعت جنگل‌های هیرکانی شمال ایران، از جمله انگیزه‌های مهم مطالعه گونه‌های درختی این مناطق است. هدف این تحقیق، ارزیابی تنوع ژنتیکی لور یا *Carpinus orientalis* Mill. در جنگل‌های هیرکانی شمال ایران، با

<sup>۱</sup> برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد به راهنمایی دکتر آرمان محمودی اطاقوری دکتر علیرضا نقی‌نژاد و دکتر اباصلت حسین‌زاده کلاگر- دانشگاه مازندران

<sup>۲</sup> (نویسنده مسئول) استاد، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران؛ ahcolagar@umz.ac.ir; acolagar@yahoo.com

<sup>۳</sup> کارشناس سیستماتیک اکولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر

<sup>۴</sup> دانشیار سیستماتیک اکولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر

<sup>۵</sup> استادیار سیستماتیک اکولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر

استفاده از مطالعات ریخت‌شناسی و الگوی پروتئینی بذرها در روش سدیم دو دسیل سولفات- پلی آکریلامید ژل الکتروفورز (SDS-PAGE) است. برای این منظور نمونه‌های گیاهی از جمعیت‌های جنگلی استان‌های خراسان شمالی؛ گلستان؛ مازندران و گیلان تهیه گردید. مطالعات ریخت‌شناسی با بررسی ۲۸ صفت کمی و کیفی انجام شد. استخراج پروتئین‌های بذر با بافر تریس-گلیسین انجام شد و پس از تعیین غلظت به روش برادفورد الگوی بانندی الکتروفورزی مورد بررسی گرفت. آنالیز داده‌های ریخت‌شناسی و الگوی باندهای الکتروفورزی، با استفاده از نرم‌افزار PAST انجام شد. نتایج نشان داد الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر جمعیت‌ها در ژل SDS-PAGE دارای پلی مورفیسم ۱۰ بانندی بود. بیشترین تعداد باندها مربوط به جمعیت‌های چالوس و کیاسر در مازندران و کمترین تعداد آنها مربوط به جمعیت‌های چی چال در گیلان بود. دندروگرام‌های حاصل از مطالعات ریخت‌شناسی و پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر تفاوت‌هایی با یکدیگر داشتند. که نشان می‌دهد در این گونه، تغییرات ریخت‌شناسی و ژنتیکی با سرعت یکسانی پیش نمی‌روند.

#### واژه‌های کلیدی: الکتروفورز، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، *Carpinus orientalis*، شمال ایران

نزدیک به سطح دریا تا حدود ۲۸۰۰ متر به همراه تنوع اقلیمی در طول گستره این منطقه رویشی، سبب شکل‌گیری یکی از مهمترین ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی زیست کره گردیده است، که قدمت برخی از گونه‌های آنها به دوران سوم زمین‌شناسی برمی‌گردد (پارسا‌پژوه، ۱۳۷۲). متأسفانه، سالیان متمادی است که تخریب، بهره‌برداری و

مقدمه  
جنگل‌های هیرکانی با بیش از ۱۳۰ گونه درختی (ثابتی، ۱۹۷۲) و درختچه‌ای در طول رشته کوه‌های البرز، همچون نوار سبزی سواحل جنوبی دریای خزر از حوالی آستارا تا گلیداغ در شمال ایران را پوشانده است (خسروشاهی و قوامی، ۱۳۸۴). در واقع، تنوع توپوگرافی و حضور پوشش گیاهی از ارتفاع

گونه‌ها و هیبریدها کاملاً مشخص نشد. همچنین هنوز اتفاق نظری در مورد زیرگونه‌های احتمالی گونه لور در ایران وجود ندارد، درحالی‌که تعدادی از تاکسونومیست‌ها برای این گونه دو زیر گونه *subsp. orientalis* و *macrocarpa* *subsp.* را قائل هستند (ثابتی، ۱۳۵۵؛ Browicz, 1972); اما برخی دیگر به تقسیم‌بندی درون‌گونه‌ای برای این گونه اعتقادی نداشته و آنها را به عنوان دو گونه جدا از هم در نظر می‌گیرند (ثابتی، ۱۳۵۵). بنابراین، با توجه به عدم اتفاق نظر محققان روی نوع و تعداد گونه‌های جنس ممرز و همچنین تخریب وسیع رویشگاه‌های ممرز در شمال ایران، مطالعه تنوع ژنتیکی آن برای اتخاذ تدابیر مدیریتی مناسب در راستای حفاظت و توسعه اصولی‌تر و همچنین توقف فرسایش ژنتیکی گونه‌های جنس ممرز در شمال ایران ضروری است.

شناساگرهای مولکولی نظیر DNA و یا پروتئین می‌توانند به عنوان ابزای مفید و قابل اعتمادی در شناسایی، تعیین تنوع ژنتیکی و بررسی روابط خویشاوندی گونه‌های گیاهی استفاده شوند. الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها می‌تواند باند‌هایی را به عنوان شناساگرهای مولکولی معرفی کند (Criley et al., 2008; Tamkoc and Arsalan, 2010). بنابراین، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر می‌توانند در شناسایی گونه‌ها

قاچاق چوب، سبب کاهش مساحت جنگل‌های هیرکانی در حال حاضر گردیده است. یکی از جنس‌های گیاهی ارزشمند که از اروپای جنوبی تا جنگل‌های شمال ایران امتداد یافته است و در سرتاسر جنگل‌های خزر از گرگان تا ارسباران و در ارتفاعات فوقانی پراکنده است (ثابتی، ۱۳۵۵)، جنس ممرز (*Carpinus L.*) از خانواده غان (*Betulaceae*) است. خانواده غان در ۶ جنس و ۱۳۰ گونه گزارش شده است (Yoo and Wen 2002, 2007; Chen et al., 1999). لور (*Carpinus orientalis Mill.*) گیاهی درختچه‌ای یا درختی کوچک با ارتفاع حدود ۵ متر است که در مقایسه با ممرز (*C. betulus L.*) دارای تنه کوتاه‌تر و بسیار منشعب‌تر است و در مناطق رو به آفتاب و صخره‌ای رشد می‌کند. بین پژوهشگران مختلفی که روی جنس ممرز کار می‌کنند، از نظر نوع و تعداد گونه‌های موجود از این جنس در ایران اختلاف وجود دارد. در فلورا ایرانیکا (Browicz, 1972) از جنس ممرز در ایران دو گونه به نام‌های ممرز (*C. betulus*) و لور (*C. orientalis*) گزارش شد و گونه کچف (*C. schuschaensis Winkl.*) هیبریدی از دو گونه ممرز و لور است. همچنین ثابتی در کتاب جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های خود برای این جنس در ایران چهار گونه ممرز، تفر (*C. macrocarpa Willk.*)، کچف و لور قائل است. بنابراین ماهیت اصلی این

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق نمونه‌های تازه گیاهی از جمعیت‌های گونه‌های لور در اوایل شهریورماه، از جنگل‌های شمال و شمال شرقی ایران شامل استان‌های خراسان شمالی، گلستان، مازندران و استان گیلان تهیه گردید، بدین صورت که از هر جمعیت تعداد ۵ پایه بصورت تصادفی به فواصل حداقل ۱۰۰ متر از یکدیگر (Miles *et al.*, 1995)، انتخاب و جمع‌آوری شدند (جدول ۱). به منظور مطالعات ریخت‌شناسی ۲۸ صفت شامل ۱۳ صفت کمی و ۱۵ صفت کیفی (جدول ۲) به این صورت که برای هر صفت سه نمونه مورد بررسی قرار گرفت. برای صفات کمی بیشترین مقدار و برای صفات کیفی بیشترین تکرار در نظر گرفته شد. به منظور مطالعات پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر استخراج پروتئین به روش Jensen و Lixue (۱۹۹۱) با اندکی تغییر از ۰/۱۵ گرم پودر بذرهای کاملاً رسیده از هر درخت در هاون چینی با نیتروژن مایع با استفاده از بافر استخراج تریس-گلیسین (تریس ۰/۰۱ مولار و گلیسین ۰/۰۸ مولار با pH = ۸/۲) انجام گرفت. کمیت پروتئین‌های استخراجی با استفاده از روش عمومی برادفورد با آلبومین سرم گاوی یا BSA (Bovine serum albumin) به عنوان پروتئین استاندارد، اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976). برای

و روابط فیلوژنتیک بین آنها مفید باشند (Iqbal *et al.*, 2005; Javid *et al.*, 2004). همچنین با استفاده از باندهای پروتئینی ایجاد شده، می‌توان تفاوت‌های بین رویشگاه‌های مختلف یک گونه و روابط فیلوژنتیکی در میان بذرهای جمع‌آوری شده از مناطق مختلف جغرافیایی را بررسی کرد (Asghar *et al.*, 2003; Ehsanpour *et al.*, 2010; Ahmad and Slinkard, 1992). حضور یا غیاب و سطح بیان باندهای پروتئینی، شاخص مهمی برای شناسایی گیاهان است (Dvoracek *et al.*, 2003; Fufa *et al.*, 2005). در عین حال، بیشتر تحقیقات مربوط به پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به گونه‌های زراعی و یا علوفه‌ای که به نوعی تأمین‌کننده غذای انسان و دام هستند، مربوط می‌شود (Valizadeh, 2001; Teuber *et al.*, 2001; Panigrahi *et al.*, 2007). البته مطالعات زیادی نیز بر روی گونه‌های درختی از جمله جنس *Cochorus* (Maity *et al.*, 1999) گونه *Populus euphratica* (Calagari and Roglet, 2010) جنس *Quercus* L. (Salehi, 1996) و تیره *Fagaceae* (Collada *et al.*, 1996) انجام گرفت. تحقیق حاضر به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی لور بر اساس الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر و میزان تطابق نتایج آن با نتایج مطالعه ریخت‌شناسی این گونه انجام شد.

این منظور از نسبت نمونه به معرف برادفورد که ۱ به ۵۰ است، استفاده شد و از غلظت‌های ۰/۱-۱ میلی‌گرم در لیتر از نمونه پروتئین BSA به عنوان استاندارد استفاده شد. به این نحو که ابتدا حجم‌های (۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰) میکرولیتر از محلول ذخیره (۱mg/ml, ) BSA در لوله‌های آزمایش ریخته شد. حجم همه لوله‌ها با بافر حلال نمونه به ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های مجهول نیز در لوله‌های آزمایش دیگری ریخته شدند و در صورت لزوم نمونه‌ها با بافر حلال، رقیق گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد به هر لوله اضافه گردید. محتویات لوله‌ها سه دقیقه با ورتکس مخلوط شدند. سپس مقدار جذب آن‌ها در ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید و با استفاده از منحنی استاندارد (شکل ۲-۲) غلظت نمونه‌های مجهول محاسبه شد.

#### جدول ۱- مکان و ارتفاع نقاط جمع آوری جمعیت‌های مورد مطالعه

##### از گونه لور *Carpinus orientalis* Mill.

ارتفاع از سطح دریا (m a.s.l.)	طول جغرافیایی (UTM)	عرض جغرافیایی (UTM)	استان و محل جمع‌آوری	شماره هرباریومی*	کد اختصاری*
۶۵۰	۵۵۵۷۱۷	۳۷۲۲۲۸	گلستان؛ تنگراه، نزدیک جاده	۱۵۱۴	ori1-1
۱۳۰۰	۵۶۴۳۴۹	۳۷۲۵۴۵	خراسان شمالی؛ درکش، کانی گندی	۱۵۲۱	ori 1-6
۱۴۰۰	۵۶۴۳۳۴	۳۷۲۵۵۶	خراسان شمالی؛ درکش، پیازکوه، قجی	۱۵۲۲	ori 1-10
۷۰۰	۵۵۵۳۵۶	۳۷۲۲۲۳	گلستان؛ پارک ملی گلستان	۱۵۲۷	ori 2-13
۱۶۰۰	۵۶۴۴۵۳	۳۷۲۵۱۰	گیلان؛ رشت، رستم‌آباد، عمارلو، سبین، آربوناو، چی چال	۱۵۲۵	ori 4-1
۱۸۰۰	۵۶۴۴۵۴	۳۷۱۰۱۱	گیلان؛ رشت، رستم‌آباد، عمارلو، سبین، آربوناو، چی چال	۱۵۲۶	ori 4-3
-۲۱	-	-	مازندران؛ باغ گیاه‌شناسی نوشهر	۱۵۱۸	ori 3-10
۱۴۰۰	۵۴۴۸۵۷	۳۶۴۴۳۵	مازندران؛ ساری، جنگل کیاسر	۱۵۲۴	ori 3-7
۱۷۰۰	۵۶۴۴۴۹	۳۷۲۴۴۵	مازندران؛ چالوس، جاده کندوان، ولی‌آباد	۱۵۲۰	ori 3-12

\* جمع‌آوری‌کننده و شناسایی نمونه‌ها توسط نویسنده همکار علیرضا نقی نژاد، سال ۱۳۹۰ (ش. ۵)

\*\* شماره هرباریومی: هرباریوم دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران - بابلسر

## جدول ۲- صفات ریخت‌شناسی کمی و کیفی ارزیابی شده در نمونه‌های گیاهی

به انضمام نام اختصاری صفات.

شماره	عنوان صفت	معادل انگلیسی	اختصار	مقیاس/حالت
۱	طول برگ	Leaf length	LL	سانتی متر
۲	عرض برگ	Leaf width	LW	سانتی متر
۳	فاصله پهن ترین قسمت برگ از قاعده	The widest part of leaf base	WPLB	سانتی متر
۴	طول دم‌برگ	Petiole length	PL	سانتی متر
۵	طول دم‌برگ به طول برگ	PL/LL	RPLL	سانتی متر
۶	عرض برگ به طول برگ	LW/LL	RLWL	سانتی متر
۷	درصد طول دم‌برگ به طول کل برگ	$PL*100/(LL+PL)$	RPLP	سانتی متر
۸	تعداد جفت رگبرگ در هر برگ	Number of vein pairs per leaf	NVPL	سانتی متر
۹	طول دمگل آذین	Length of peduncle	LI	سانتی متر
۱۰	طول براکته میوه	Fruit bract length	FBL	سانتی متر
۱۱	عرض بالایی براکته میوه	Fruit bract high latitudes	FBHL	سانتی متر
۱۲	عرض پایینی براکته میوه	Fruit bract bottom width	FBBW	سانتی متر
۱۳	تعداد لوب‌های میوه	Number of lobes on fruit bracts	NLFB	یک عدد: ۱ / دو عدد: ۲ / سه عدد: ۳
۱۴	گوشوارک	Stipule	SU	دارد: ۱ / ندارد: ۰
۱۵	کرک حاشیه برگ	Leaf margin trichomes	LMT	دارد: ۱ / ندارد: ۰
۱۶	براکته میوه	Fruit bracts	FBS	مقارن: ۱ / نامقارن: ۰
۱۷	حاشیه دندان‌دار لوب میانی میوه	Serrate margin on the middle lobe of bracts	SMLB	بدون دندان: ۰ / در یک طرف دندان‌دار: ۱ / در دو طرف دندان‌دار: ۲
۱۸	شکل فندقه	Nutlet shape	NSH	تخم مرغی: ۱ / بیضی: ۲
۱۹	حاشیه برگ	Leaf margin	LM	ساده: ۱ / مضاعف: ۲
۲۰	کرک سطح بالایی برگ	Upper leaf surface trichomes	ULST	دارد: ۱ / ندارد: ۰
۲۱	کرک سطح پایینی برگ	Lower leaf surface trichomes	LLST	دارد: ۱ / ندارد: ۰
۲۲	فندقه احاطه شده	Bract of nutlet	BEN	شده: ۱ / نشده: ۰ / تا حدودی: ۲

شماره	عنوان صفت	معادل انگلیسی	اختصار	مقیاس/حالت
۲۳	کرک های سطح درونی براکته میوه	Trichome of the inner surface of the fruit	TISF	دارد: ۱ / ندارد: ۰
۲۴	کرک سطح بیرونی براکته میوه	Trichome of the outer surface of the fruit	TOSF	دارد: ۱ / ندارد: ۰
۲۵	کرک های خاردار در پایه براکته	Setose trichomes at the base of bracts	STBB	دارد: ۱ / ندارد: ۰
۲۶	شکل انتهای برگ	Lamina tip	LT	تیز: ۱ / تیز به ندرت باریک: ۲ / تیز به ندرت گرد: ۳ / گرد به ندرت تیز: ۴
۲۷	شکل قاعده برگ	Lamina base shape	BL	گرد: ۱ / گرد به ندرت قلبی: ۲ / قلبی: ۳ / قلبی به ندرت گرد: ۴
۲۸	شکل برگ	Lamina shape	TL	تخم مرغی: ۱ / تخم مرغی به ندرت بیضی: ۲ / بیضی به ندرت تخم مرغی: ۳ / بیضی: ۴

## نتایج

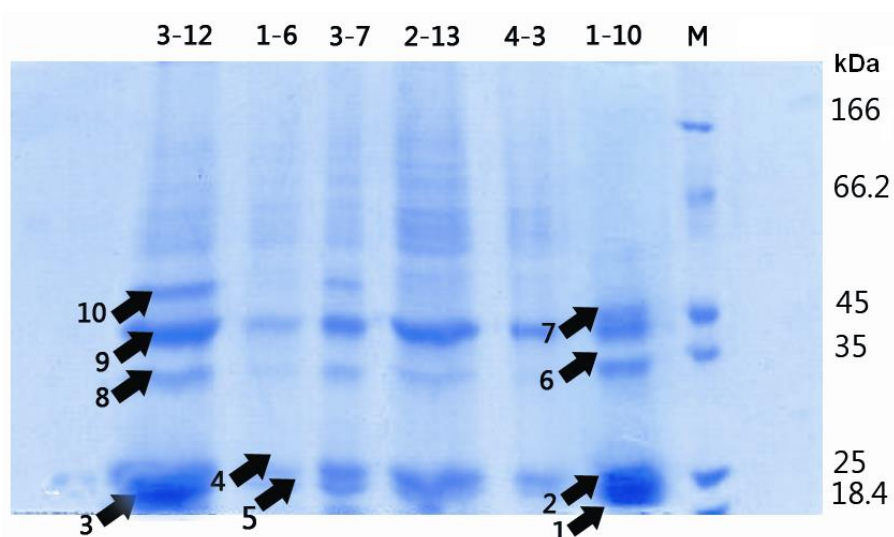
بر اساس دندروگرام حاصل از مطالعات ریخت شناسی، جمعیت‌های مورد مطالعه به دو گروه عمده طبقه‌بندی می‌گردد. گروه اول فقط شامل جمعیت چالوس می‌باشد. گروه دوم به دو زیر گروه تقسیم می‌شود. زیر گروه اول شامل جمعیت‌های تنگراه، قجی، آبشهر و چی چال (۱۸۰۰ متر) و زیر گروه دوم شامل جمعیت‌های کانی گندی، کیاسر، نوشهر و چی چال (۱۶۰۰ متر) می‌باشد.

الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره ای بذر برای جمعیت‌های مورد مطالعه، الگوی ۱۰ بانندی را نشان داد که در ۱۰ نوع باند مختلف پروتئینی ظاهر گردیدند. بطوریکه بیشترین تعداد باندها به جمعیت‌های چالوس و کیاسر با ۵ باند و کمترین تعداد به جمعیت چی چال (۱۸۰۰ متر) با ۲ باند مربوط بود. باندهای ظاهر شده در محدوده ۶۶/۲-۱۸/۴ کیلو دالتون (kDa) بودند. بیشترین تعداد باند ها در محدوده پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۱۸/۴ تا ۳۵ کیلو دالتون و کمترین تعداد در محدوده

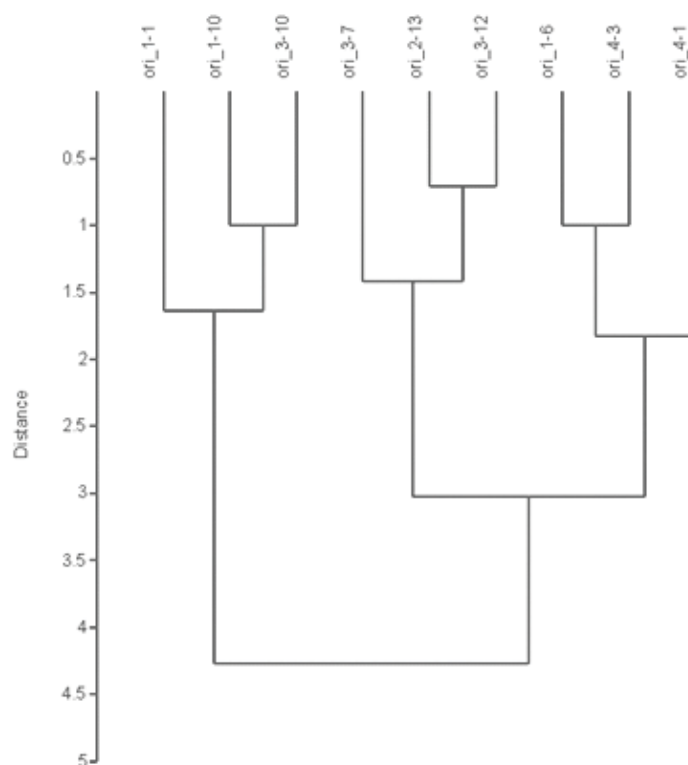
جمعیت چالوس بود. در جمعیت چی چال (۱۶۰۰ متر) هیچ بانندی مشاهده نشد. جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس کلاستر حاصل از مطالعات پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به دو گروه تقسیم شدند (شکل ۱)؛ به طوری که گروه اول شامل جمعیت‌های تنگراه، قجی و نوشهر و گروه دوم به دو زیر گروه بدین صورت که زیر گروه اول شامل چالوس، آبشهر و کیاسر و زیر گروه دوم شامل جمعیت‌های کانی گندی، چی چال (با ارتفاع ۱۶۰۰ متر از سطح دریا) و چی چال (با ارتفاع ۱۸۰۰ متر از سطح دریا) می شود. همچنین آنالیز به مولفه‌های اصلی برای مطالعه تاثیر نقش باندها در گروه بندی نیز انجام شد (شکل ۲) که مولفه اول ۴۰ درصد واریانس جمعی را به خود اختصاص داد درحالیکه مولفه های دوم، سوم و چهارم به ترتیب ۲۷، ۱۱ و ۱۲ درصد واریانس را شامل شدند. در تشکیل مولفه اول در مرتبه اول باندهای ۱، ۲، ۹، ۸ و ۳ و در مراتب بعدی باندهای ۴، ۵، از اهمیت بیشتری برخوردار بودند. باندهای ۶، ۷ و ۱۰ نقش کمتری در جدایی جمعیت‌ها داشتند.

پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۳۵ تا ۴۵ قرار داشتند. همچنین تعدادی از باندها در محدوده پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۴۵ تا ۶۶/۲ مشاهده شدند. با اینکه میزان پروتئین‌های بار شده به داخل همه چاهک‌ها یکسان بود، باندها از لحاظ تراکم و شدت، اختلاف نشان دادند (شکل ۱). باندهای ضخیم تر دارای مقدار بیشتری از رشته های پپتیدی در آن محل هستند. باند ۱ و ۲ در جمعیت‌های تنگراه، قجی و نوشهر، باند ۳ در جمعیت‌های چالوس، کیاسر، آبشهر و نوشهر مشاهده شد، باند ۴ در جمعیت‌های تنگراه، قجی و نوشهر وجود نداشت درحالیکه به وضوح در جمعیت‌های چالوس، کانی گندی، کیاسر، آبشهر و چی چال قابل رویت بود. باند های ۵ در جمعیت‌های کانی گندی و کیاسر، باند ۶ در جمعیت‌های تنگراه و کانی گندی، باند ۷ در جمعیت‌های تنگراه و چالوس و باند ۸ در جمعیت‌های چالوس، کیاسر و آبشهر دیده شدند. باند ۹ در جمعیت‌های چالوس، آبشهر، تنگراه و نوشهر وجود نداشتند درحالیکه همین باندها به وضوح در جمعیت‌های کانی گندی، کیاسر، چی چال (۱۸۰۰ متر) و قجی قابل رویت بود و باند ۱۰ فقط مختص

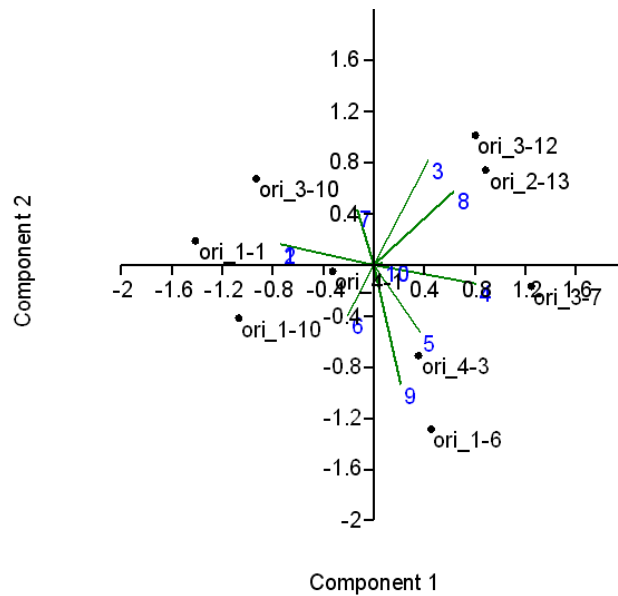




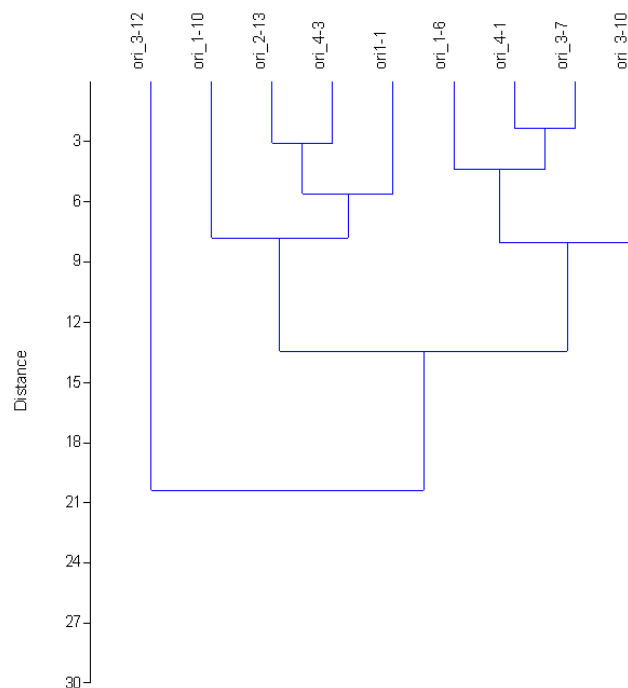
شکل ۱- الگوی الکتروفورزی پروتئین های نخیره‌های بذر پایه‌های درختی مختلف در ژل SDS-PAGE



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های نخیره‌های بذر حاصل از جمعیت‌های لور



شکل ۳- آنالیز تجزیه به مولفه های اصلی (PCA) برای مطالعه تاثیر نقش باندهای الکتروفورزی بذر جمعیت‌های لور: ori1-1= گلستان، تنگراه، نزدیک جاده؛ ori1-6= خراسان شمالی، درکش، کانی گندی؛ ori1-10= خراسان شمالی، درکش، پیازکوه، قجی؛ ori2-13= گلستان، گرگان، پارک ملی گلستان؛ ori3-7= مازندران، ساری، ارتفاعات کیاسر؛ ori3-10= مازندران، نوشهر، باغ گیاه شناسی؛ ori3-12= مازندران، چالوس، جاده کندوان، منطقه ناهارخوران؛ ori4-1= گیلان، رشت، رستم آباد، عمارلو، سبین، آربوناو، چی چال؛ ori4-3= گیلان، رشت، رستم آباد، عمارلو، سبین، آربوناو، چی چال



شکل ۳- تجزیه خوشه ای ۲۸ صفت ریخت شناسی در جمعیت‌های مورد مطالعه: ori1-1= گلستان، تنگراه، نزدیک جاده؛ ori1-6= خراسان شمالی، درکش، کانی گندی؛ ori1-10= خراسان شمالی، درکش، پیازکوه، قجی؛ ori2-13= گلستان، گرگان، پارک ملی گلستان؛ ori3-7= مازندران، ساری، ارتفاعات کیاسر؛ ori3-10= مازندران، نوشهر، باغ گیاه شناسی؛ ori3-12= مازندران، چالوس، جاده کندوان، منطقه ناهارخوران؛ ori4-1= گیلان، رشت، رستم آباد، عمارلو، سبین، آربوناو، چی چال؛ ori4-3= گیلان، رشت، رستم آباد، عمارلو، سبین، آربوناو، چی چال

## بحث

در این مطالعه هر چند تکنیک الکتروفورز قادر به جداسازی کامل جمعیت‌ها از یکدیگر نشد، ولی بیشتر جمعیت‌های یک استان در کنار یکدیگر قرار گرفتند. از طرف دیگر نتایج خوبی در زمینه وزن مولکولی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذرگونه لور بدست آمد. این نتایج از آن جهت اهمیت دارد که در زمینه الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذرگونه مورد نظر، تاکنون گزارشی منتشر نشد. در این تحقیق باندهای انحصاری برای تفکیک جمعیت‌های مختلف گونه لور شناسایی شدند. باند ۵ مختص جمعیت‌های کانی گندی و کیاسر، باند ۶ مختص جمعیت‌های قجی و تنگراه و باند ۷ مختص جمعیت‌های چالوس و تنگراه، باند ۱۰ مختص جمعیت چالوس و تنگراه، باند ۱ و ۲ به جمعیت‌های تنگراه، قجی و نوشهر اختصاص داشت. از این رو می‌توان از این باندها برای تفکیک جمعیت‌های این گونه از یکدیگر استفاده نمود. نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز تاثیر باندهای فوق را در گروه‌بندی جمعیت‌ها تایید کرد؛ به طوری که باندهای شماره‌های ۱ و ۲ که در جمعیت‌های کیاسر، آبشهر، چالوس، کانی گندی و چال دیده نشدند بیشترین نقش را در گروه‌بندی داشتند و احتمالاً به دلیل عدم حضور این دو باند در جمعیت‌های ذکر شده، تجزیه خوشه‌ای، سایر جمعیت‌ها یعنی

تنگراه، قجی و نوشهر را در خوشه‌ای جدا از سایر جمعیت‌ها قرار داد. این باندها در محدوده وزنی حدود ۳۵-۱۸/۴ کیلودالتون قرار داشتند. بنابراین می‌توان گفت جمعیت‌های تنگراه، قجی و نوشهر در این محدوده وزنی با سایر جمعیت‌ها تفاوت دارند. همچنین با توجه به این که باند شماره ۱۰ فقط به جمعیت چالوس اختصاص داشت، ولی بر اساس نتایج تجزیه به مولفه اصلی این باند نقش مؤثری در گروه‌بندی نداشت. به عبارتی از آنجا که این باند فقط در جمعیت چالوس قابل مشاهده است، نمی‌توان از آن در تفکیک سایر جمعیت‌ها استفاده کرد. پروتئین‌ها به عنوان محصولات مستقیم ژن‌ها، نشانگرهای مناسبی در ارزیابی تنوع ژنتیکی محسوب می‌شوند و 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 ریخت‌شناسی دارد (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۰). اخیراً یوسف زاده و همکاران (۱۳۹۰) نیز با مطالعه همسویی الگوی پروتئینی بذر جمعیت‌های مختلف نمدار (*Tilia spp.*) از پنج جمعیت در جنگل‌های هیرکانی با تنوع ریختی میوه، نشان دادند الگوی باندی ژل الکتروفورزی بذر، به وضوح توانسته تیپ‌های ریختی میوه نمدار را از یکدیگر تفکیک نماید.

هستند. درحالی‌که جمعیت‌های کیاسر، آبشهر و چالوس با این‌که دارای صفات ریخت‌شناسی متفاوتی هستند اما دارای الگوهای پروتئینی مشابهی اند. بنابراین همانطور که از نتایج این تحقیق مشخص می‌شود، دست آوردهای مولکولی و ریخت‌شناسی همیشه بر یکدیگر منطبق نیست. تقسیم‌بندی‌های زیرگونه‌ای محققان قبلی از گونه لور منطبق بر واقعیت‌های عینی مورفولوژی به ویژه ریخت‌شناسی میوه، برگ‌ک میوه و برگ بوده است. علی‌رغم جستجوی بسیار جهت یافتن زیست‌گاه‌های طبیعی هر دو زیرگونه لور در سراسر جنگل‌های هیرکانی، متأسفانه درختانی که ویژگی‌های زیرگونه *macrocarpa* را داشته باشند، یافت نشد. هر چند نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که الگوهای پروتئینی بذر قادر است تفاوت‌های عمیق جمعیت‌های مختلف لور را فارغ از موضوعاتی مانند اکوتیپ و یا اکوکالین نشان دهد (نگاه کنید به شکل ۲)، پر واضح است که این تحقیق در ابتدای راه است و تنها زمانی می‌توان تصویر کامل و وافی از تقسیمات زیرگونه‌ای لور بدست آورد که جمعیت‌های گسترده‌تری از ارتفاعات و زیست‌گاه‌های مختلف این‌گونه جمع‌آوری گردد و با هر دو دیدگاه مولکولی و مورفولوژی مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد.

مقایسه دو درخت حاصل از مطالعات ریخت‌شناسی و پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، گویای این واقعیت است که جمعیت چالوس که از لحاظ ریخت‌شناسی تفاوت زیادی را نسبت به سایر جمعیت‌ها نشان می‌دهد، از لحاظ الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مشابه با سایر جمعیت‌ها است. این موضوع بیانگر تنوع صفات ریخت‌شناسی در شرایط اقلیمی متفاوت می‌باشد ( Jones and Wilkins, 1971). همچنین محققان قسمتی از تنوع صفات ریخت‌شناسی را ناشی از تفاوت در شرایط اقلیمی و تحت تاثیر خاک رویشگاه از جمله میانگین رطوبت و دمای سالیانه، طول فصل خشک و میزان حاصل خیزی خاک ( Schimedt and Levin, 2003; Hydiu mayi, 2003; Levin, 1985) و قسمتی دیگر را ناشی از وجود تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌دانند. می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت‌های ریخت‌شناسی مشاهده شده در جمعیت چالوس به احتمال زیاد در اثر سازش با محیط ایجا شده است و منشا ژنتیکی ندارد. از طرفی جمعیت‌های تنگراه و قچی که صفات ریخت‌شناسی تقریباً مشابهی دارند و از سایر جمعیت‌ها جدا می‌شوند، دارای الگوهای پروتئینی مشابهی نیز هستند. همچنین جمعیت‌های کانی‌گندی و چی چال دارای صفات ریخت‌شناسی و الگوهای پروتئینی مشابه هم و متفاوت از سایر جمعیت‌ها

## سیاسگزاری

منابع طبیعی استان گیلان) که در جمع‌آوری

نمونه‌های لور در استان‌های مختلف

مساعدت کرده اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

از آقایان کمالی (مرکز تحقیقات کشاورزی و

منابع طبیعی استان خراسان شمالی) و

پورنصرالله (مرکز تحقیقات کشاورزی و

## منابع

پارسا پژوه، د. (۱۳۷۲). اطلس چوب های شمال ایران. انتشارات دانشگاه تهران.

ثابتی، ح. (۱۳۵۵). جنگل‌ها، درختان و درختچه های ایران. انتشارات دانشگاه یزد.

خسروشاهی، م. و قوامی، ش. (۱۳۸۴) هشدار. نشر پونه، تهران.

مظفریان، و. (۱۳۸۳). درختان و درختچه های ایران. انتشارات فرهنگ معاصر.

میرزایی ندوشن، ح.، شریعت، آ. و اسدی کرم، ف. (۱۳۸۰). ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در

جمعیت‌های مختلف تاغ *Haloxylon spp* با استفاده از الکتروفورز. تحقیقات ژنتیک و

اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۷: ۹۹-۱۱۷.

یوسف‌زاده، ح.، حسین زاده کلاگر، ا.، طبری، م.، ستاریان، ع. و اسدی م. (۱۳۹۰). ارزیابی تنوع

ژنتیکی نمدار (*Tilia sp.*) با استفاده از الکتروفورز پروتئین های ذخیره ای بذر. تحقیقات

ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۹(۲): ۳۳۷-۳۴۴.

Ahmad, F. and Slinkard, A. E. (1992). Genetic relationships in the genus *Cicer L.*, as revealed by polyacrylamide gel electrophoresis of seed storage proteins. *Theoretical and Applied Genetics*, 84: 688-692.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.Bradford, M. 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.Browicz, K. 1972. In: K. H. Rechinger (eds). *Flora Iranica*, vol. 97, Pp. 91-100. Graz.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.

- Chen, Z. D., Manchester, Z.R. and Snu, H. Y. (1999). Phylogeny and evolution of the Betulaceae as inferred from DNA sequences, morphology and paleobotany. *American Journal of Botany*, 98: 1168-1181.
- 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.
- Criley, R. A., Roh, M. S., Kikuchi, M. and Manshardt, R. M. (2008). A Comparison of *Gardenia augusta* cultivars using isozymes and RAPD markers. *Acta Horticulturae*, 766:461-468.
- Dvoracek, V., Curn, V. and Moudry, J. (2003). Suitability of oat-seed storage-protein markers for identification of cultivars in grain and flour samples. *Plant, Soil and Environment*, 49(11): 486-491.
- 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.
- Fufa, H., Baenziger, P.S., Beecher, B. S., Dweikat, I., Graybosch, R.A. and Eskridge, K. M. (2005). Comparison of phenotypic and molecular marker-based classifications of hard red winter wheat cultivars. *Euphytica*, 145: 133-146.
- Green, M.R. and Sambrook, J. (2012). *Molecular cloning: A laboratory manual*: Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harbor, New York.
- Hammer, Q., Harper, D. A. T. and Rayan, P. D. (2001). Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1):1-9.
- 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 Biological Sciences*, 36(1): 25-29.
- Jensen, U. and Lixue, C. (1991). Abies seed protein profile divergent from other pinaceae. *Taxon*, 40(3): 435-440
- Maity, S., Datta, A. K. and Chattopadhyay, A. (2009). Seed protein polymorphism in species of Jute (*Corchorus*, Family: Tiliaceae). *Indian Journal of Science and Technology*, 2(1): 34-36.
- Merwin, M. L., Martin, J. A. and Westfall, R. D. (1995). Provenance and progeny variation in growth and frost tolerance of *Casuarina cunninghamiana* in California, USA. *Forest Ecology and Management*, 79(3): 161-171.
- 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 Journal*, 1: 109-116.

- Rogl, S., Javornik, B., Sinkovic, T. and Batic, F. (1996). Characterization of Oak (*Quercus* L.) seed proteins by electrophoresis. *Phyton*, 36(3): 159-162.
- Tamkoc, A. and Arslan, E. (2010). Comparison of agronomic characters, total seed storage proteins and their use for genotypes discrimination in the kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(1): 1573-1576.
- Teuber, S.S., Sathe, S. K., Peterson, W. R. and Roux, K. H. (2002). Characterization of the soluble allergenic proteins of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6543-6549.
- Valizadeh, M. (2001). Seed storage protein profile of grain legumes grown in Iran, using SDS-PAGE. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 3: 287-292.
- Yoo, K. O. and Wen, J. (2002). Phylogeny and biogeography of *Carpinus* and subfamily coryloideae (Betulaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 163: 641-650.
- Yoo, K. O. and Wen, J. (2007) Phylogeny of *Carpinus* and subfamily coryloideae (Betulaceae) based on chloroplast and nuclear ribosomal sequence data. *Plant Systematics and Evolution*, 267: 25-35.