

بررسی تنوع ژنتیکی پده (*Populus euphratica* Oliv.) با ارزیابی پروتئین‌های محلول به روش SDS-PAGE

محسن کلاگری*^۱ و پروین صالحی شانجانی^۱

^۱عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
(تاریخ دریافت: ۱۵/۱۲/۸۸، تاریخ پذیرش: ۲۸/۶/۸۹)

چکیده

گونه پده (*Populus euphratica* Oliv.) به‌طور طبیعی در مناطق گسترده‌ای از ایران انتشار یافته و بومی مناطق خشک و نیمه‌خشک است. تنوع جغرافیایی و اقلیمی در گستره انتشار این گونه، از جمله عوامل مهم در ایجاد تفاوت‌های مورفولوژیکی و ژنتیکی میان درختان در رویشگاه‌های مختلف به‌شمار می‌آید. به‌منظور تعیین تنوع ژنتیکی موجود بین درختان پایه نر و ماده پده، بررسی پروتئین محلول به‌روش ژل پلی‌اکریل‌آمید الکتروفورز (SDS-PAGE) روی ۴۴ نمونه عصاره برگ متعلق به یازده رویشگاه طبیعی که از نظر محیطی، طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا با یکدیگر اختلاف داشتند انجام شد. باندهای پروتئینی درختان نر و ماده برای پروونانس‌های مورد بررسی بر روی ژل نمایان و جایگاه هر یک از باندها از طریق تعیین فاصله حرکت نسبی آنها مشخص شد. در مجموع ۲۲ باند مجزا با تحرک متفاوت بر روی ژل ظاهر شد. نتایج حاصل از الگوی باندهای پروتئین‌ها نشان داد که درختان نر و ماده دارای تفاوت‌هایی در ظهور بعضی از باندها در فواصل تحرک مختلف هستند به‌طوری‌که پایه‌های نر دارای تعداد باندهای بیشتری نسبت به پایه ماده هستند. همچنین نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تفاوت بین پایه‌های نر و ماده را نشان داده است. گروه‌بندی پروونانس‌های پده نشان داد که پایه‌های با مبداء‌های جغرافیایی شرقی و جنوبی کشور در گروه متفاوت قرار دارند. همچنین پروونانس با مبداء جلفا در شمال غرب نیز در یک گروه مجزا قرار گرفت. با وجود رابطه همبستگی بین فاصله جغرافیایی و فاصله ژنتیکی میان پروونانس‌های پده ($P=0.07$)، این رابطه از نظر آماری معنی‌دار نبوده است.

واژه‌های کلیدی: پده، پروتئین محلول، تنوع ژنتیکی، تنوع جغرافیایی، SDS-PAGE.

مقدمه و هدف

گونه پده (*Populus euphratica* Oliv.) به طور طبیعی در مناطق وسیعی از آسیا، آفریقا و اروپا گسترش دارد (FAO, 1979). این گونه در مناطقی از ایران به طور طبیعی انتشار داشته و بومی مناطق خشک و نیمه خشک است. دامنه پراکنش آن در ایران از مناطق گرم مانند استان های خوزستان و سیستان تا مناطق سرد نظیر آذربایجان و زنجان است (ثابتی، ۱۳۵۵). از خصوصیات مهم این گونه بردباری آن به خشکی و شوری خاک، همچنین به فرسایش بادی در مناطق بیابانی است (Shiji et al., 1996). درخت پده در مناطق مورد انتشار از نظر استفاده از چوب برای مصارف روستایی، تأمین علوفه دام، حفظ و تثبیت دیواره کناری رودخانه و نیز زیستگاه حیات وحش اهمیت دارد (کلاگری، ۱۳۷۶). دو پایه بودن این گونه به همراه اختلاف های جغرافیایی و اقلیمی سبب بروز تفاوت های مورفولوژیکی و ژنتیکی شده است. تاکنون بررسی پروتئین محلول به روش ژل پلی اکریل آمید الکتروفورز (SDS-PAGE) به منظور شناخت تنوع ژنتیکی جوامع طبیعی، بررسی مقاومت ژنوتیپ های مختلف پده نسبت به شوری (Gu et al., 2004) و نیز بررسی تعدادی از گونه های صنوبر به منظور تعیین مقاومت به خشکی برخی از گونه ها گزارش شده است (Wang et al., 1997). در حال حاضر بررسی تمایز ژنتیکی با ارزیابی پروتئین های محلول به روش SDS-PAGE برای گونه های زراعی استفاده

می شود. به طوری که پروتئین های ذخیره بذر ۳۰ واریته گندم از مناطق مختلف اکولوژیکی پاکستان توسط Mohd et al. (2007) و ۸۵ کولتیوار گونه *Brassica sp.* توسط Mukhlesur & Hirata (2004) و نیز تنوع ژنتیکی ۱۸ رقم از یونجه های چند ساله در ایران توسط فارغی و همکاران (۱۳۸۶) بررسی شده است. در مورد درختان صنوبر نیز تمایز ۱۰ کلن گونه صنوبر *Populus deltoides* با استفاده از الگوی باندهای پروتئین انجام شد (Lone & Tewari, 2006). نتایج آنها گروه بندی این ارقام بر اساس الگوهای باند پروتئینی و ارتباط آنها با شرایط جغرافیایی و مورفولوژیکی بوده است. Son et al. (1993) برای بررسی تغییرات میان کلن های حاصل از کشت سلول و Bai et al. (2000) به منظور شناسایی و تفکیک هیبریدهای گونه صنوبر به ویژه پده به لحاظ مقاومت به شوری، از باندهای پروتئینی استفاده کردند. این تحقیق به منظور تعیین تنوع ژنتیکی موجود بین درختان پده با مبداء های جغرافیایی مختلف بر اساس نشانگر پروتئین محلول و نیز بررسی ارتباط ویژگی جغرافیایی با تنوع ژنتیکی، انجام گرفت.

مواد و روش ها

نمونه های گیاهی از درختان پده متعلق به ۱۱ مبداء جغرافیایی که به لحاظ شرایط اقلیمی و جغرافیایی تفاوت داشتند، انتخاب شد (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و آب و هوایی پرونانس های پده در مناطق مورد بررسی

ردیف	استان	رویشگاه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی (شرقی)	عرض جغرافیایی (شمالی)	میانگین دمای سالانه	میانگین دمای حداقل مطلق	میانگین دمای حداکثر مطلق	بارندگی سالانه
۱	خراسان	سرخس	۲۶۰	۶۱° ۱۰'	۳۶° ۱۵'	۱۷/۶	-۱۰/۶	۴۳/۹	۲۰۳/۳
۲	گلستان	داشلی برون	۵۰	۵۴° ۵۶'	۳۷° ۴۶'	۱۷/۱	-	-	۲۰۱/۹
۳	تهران	خجیر	۱۳۲۰	۵۱° ۴۵'	۳۵° ۳۹'	۱۷/۶	-۶/۹	۴۱	۲۳۱/۹
۴	گیلان	منجیل	۳۵۰	۴۹° ۱۲'	۳۶° ۴۸'	۱۷/۳	-۳/۱	۴۱/۳	۱۹۶/۴
۵	زنجان	ماه نشان	۱۸۲۰	۴۷° ۴۳'	۳۶° ۴۶'	۱۴/۶	-۱۵	۴۱/۲	۲۲۳
۶	آذربایجان شرقی	قرخلار	۱۰۷۰	۴۵° ۳۵'	۳۸° ۲۶'	۱۲	-۱۵/۴	۳۹	۳۴۲/۲
۷	آذربایجان شرقی	جلفا	۷۱۰	۴۵° ۴۷'	۳۸° ۵۰'	۱۴/۸	-۱۳/۱	۴۱/۲	۱۷۹/۸
۸	لرستان	ملاوی	۸۵۰	۴۷° ۵۵'	۳۲° ۱۵'	۱۶/۳	-۹	۴۲/۶	۵۲۳/۱
۹	خوزستان	دزفول	۱۴۰	۴۸° ۲۰'	۳۲° ۱۵'	۲۴	-۰/۲	۴۹/۵	۴۴۴/۳
۱۰	خوزستان	گتوند	۸۰	۴۸° ۵۲'	۳۲° ۰۸'	۲۴/۸	۰/۵	۵۱/۴	۲۹۵/۹
۱۱	خوزستان	حمیدیه	۵۵	۴۸° ۲۵'	۳۱° ۳۰'	۲۴/۲	۰/۵	۴۹/۴	۱۹۴/۵

ابتدا ماتریس فواصل ژنتیکی داده‌ها با نرم‌افزار GeneAlex (Peakal & Smouse, 2006) تعیین، سپس دندروگرام پروونانس‌ها با نرم‌افزار Mega4 (Tamura *et al.*, 2007) ترسیم شد. اندازه‌گیری فاصله ژنتیکی بین افراد به روش نی (Nei & Li, 1979) و تعیین ادغام گروه‌ها به روش UPGMA انجام شد. رابطه همبستگی بین ماتریس فواصل جغرافیایی و ماتریس فاصله ژنتیکی، از طریق آزمون مانتل (Mantel, 1967) با نرم‌افزار GeneAlex به‌دست آمد.

نتایج

اطلاعات حاصل از باند پروتئینی برای درختان نر و ماده در مناطق مختلف بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید نمایان و جایگاه هر باند از طریق تعیین فاصله حرکت نسبی^۲ آنها مشخص شد. شکل‌های ۱ و ۲ به ترتیب پروفیل باندهای پروتئین محلول پایه‌های ماده و نر را در رویشگاه‌های مورد بررسی نشان می‌دهد. زیموگرام الگوی الکتروفورزی باندهای پروتئین برگ پایه‌های ماده و نر به ترتیب در شکل‌های ۳ و ۴ آورده شده است. باند سبک با کمترین وزن ملکولی در فاصله تحرک ۹۲/۴ درصد و باند با وزن ملکولی بیشتر در فاصله تحرک نسبی ۸/۶ درصد قرار گرفت. بقیه باندها در فواصل بین این دو باند قرار گرفتند. در مجموع، ۲۲ باند مجزا، با تحرک متفاوت بر روی ژل ظاهر شدند.

نتایج حاصل از الگوی باندی پروتئین نشان داد که درختان نر و ماده دارای اختلاف‌هایی در ظهور بعضی از باندها در فاصله تحرک مختلف هستند به طوری که پایه‌های نر در فاصله تحرک ۲۱/۹ درصد با مبداء‌های ماه‌نشان، قرخلار و جلفا دارای این باند بوده، درحالی‌که درختان ماده فاقد این باند بودند. همچنین پایه‌های نر با مبداء‌های قرخلار و جلفا دارای باند با تحرک ۲۸/۶ درصد بوده در صورتی که در پایه ماده این باند ظاهر نشده است. برعکس بعضی از باندها در پایه ماده ظاهر شد که در پایه نر وجود نداشت. باندهای با فاصله تحرک ۶۳/۸ و ۶۷/۶ درصد در پایه ماده مبداء ماه‌نشان ظاهر شده در صورتی که در پایه نر این دو باند مشاهده نشد. نتایج رسته‌بندی با استفاده از تحلیل مؤلفه‌های اصلی برای پایه‌های نر و ماده با استفاده از حضور و عدم حضور باندهای

برای عصاره‌گیری از برگ‌های جوان یک‌ساله چهار پایه (دو پایه نر و دو پایه ماده) درخت پده که از رویشگاه‌های طبیعی به صورت قلمه تهیه شده بودند، استفاده شد. مقدار ۰/۵ گرم برگ را داخل هاون ریخته و ۴ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری (شامل ۵/۶ گرم تریس، ۲/۹۶ گرم گلیسین، pH=۸/۳) بر اساس روش Laemmler (1970) به آن اضافه شد. پس از ده دقیقه سایش عصاره وارد لوله آزمایش شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ xg سانتریفوژ شد. محلول صاف‌شده رویی با محلول بافر نمونه (شامل تریس ۰/۲ مولار و SDS ۱۰٪) به نسبت ۱:۱ مخلوط شد و به میکروتیوپ درب‌دار اپندروف منتقل و در دستگاه بن‌ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه گرم شد. نمونه تا زمان مصرف در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. الکتروفورز به روش ژل پلی‌اکریل‌آمید (شامل تریس ۱/۵ مولار، SDS ۱۰٪، اکریل‌آمید ۴۰٪، بیس اکریل‌آمید ۲٪ و آمونیوم پرسولفات ۱۰٪ و تمد) به صورت ژل پائینی (pH=۸/۳) و ژل بالایی یا توده‌کننده (pH=۶/۸) انجام شد (Laemmler, 1970). ژل‌ها پس از انجام الکتروفورز به مدت ۳۰ دقیقه داخل محلول تثبیت (شامل ۲۰ گرم تری کلرواستیک‌اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) قرار داده شد. سپس به مدت ۴ ساعت در محلول رنگ‌آمیزی (شامل کماسی‌بلو ۲۵ درصد، متانل ۲۵ درصد و اسید استیک ۱۰ درصد) قرار گرفت. در نهایت برای آشکار شدن باندهای پروتئین، ژل‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دو مرحله در محلول رنگ‌بر (شامل متانل ۲۵ درصد و اسید استیک ۱۰ درصد) قرار داده شد. دستگاه مولد برق با ولتاژ ۱۸۰ ولت با شدت جریان ۶۰ میلی‌آمپر تنظیم شد. زمان جدا سازی پروتئین حدود ۵ ساعت و میزان حرکت عصاره در ژل ۸ سانتی‌متر بود. اطلاعات حاصل از داده پروتئین ۴۴ پایه درخت نر و ماده از ۱۱ پروونانس جمع‌آوری و پس از تعیین حرکت نسبی هر باند نسبت به وجود (عدد یک) و عدم وجود (عدد صفر) هر باند در فواصل مختلف اقدام شد. تحلیل مؤلفه‌های اصلی با استفاده از داده حاصل از پایه درخت نر و ماده توسط نرم‌افزار MiniTab انجام گرفت. برای تجزیه خوشه‌ای^۱،

تحلیل خوشه‌ای نسبت به گروه‌بندی رویشگاه‌ها به صورت دندروگرام اقدام شد.

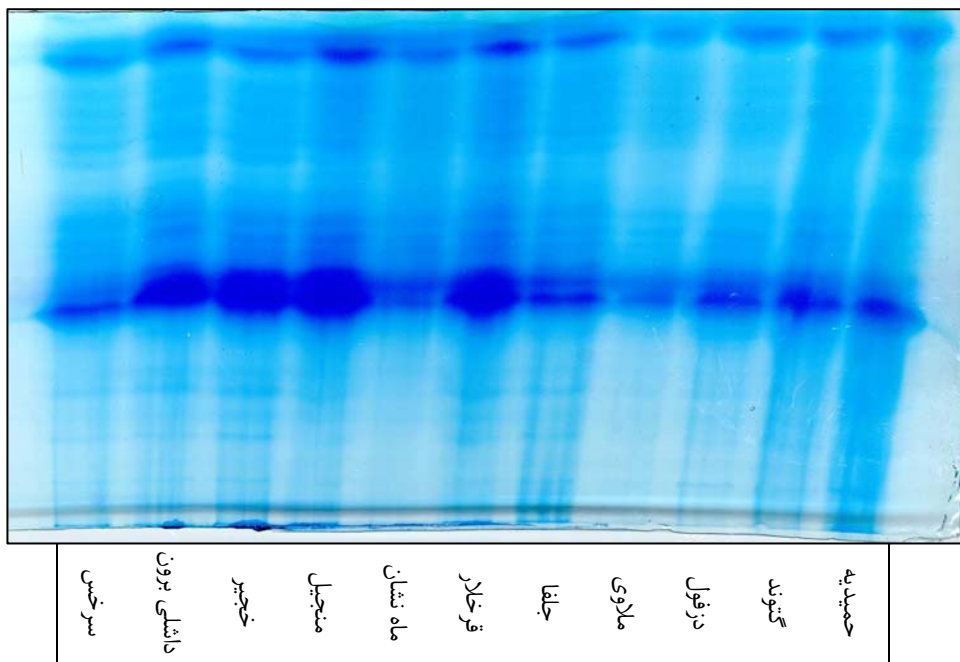
در دندروگرام حاصل از تحلیل خوشه‌ای، با انتخاب محل برش بر روی محور تشابه، درختان رویشگاه‌های مورد بررسی از یکدیگر متمایز شدند. همانطور که در شکل ۶ دیده می‌شود دندروگرام سه خوشه اصلی را میان درختان رویشگاه‌ها تفکیک می‌کند. خوشه اول شامل رویشگاه جلفا و خوشه دوم شامل رویشگاه‌های سرخس، داشلی برون و خجیر است. خوشه سوم دارای دو خوشه فرعی است. خوشه فرعی اول شامل رویشگاه‌های منجیل و ماه‌نشان و خوشه فرعی دوم نیز شامل رویشگاه‌های قرخلار، ملاوی، دزفول، حمیدیه و گتوند است.

پراکنش ابر نقاط و رگرسیون خطی نشان می‌دهد که بین فاصله ژنتیکی حاصل از داده باندهای پروتئینی و نیز فاصله جغرافیایی حاصل از داده جغرافیایی رویشگاه درختان رابطه مثبتی وجود دارد (شکل ۷). رابطه همبستگی بین ماتریس فاصله جغرافیایی و ماتریس فاصله ژنتیکی با استفاده از آزمون مانتل نشان داد با وجود همبستگی ($R=0.30$) ولی این همبستگی در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبوده و همبستگی بین عوامل ژنتیکی و جغرافیایی نسبتاً پائین است ($P=0.07$).

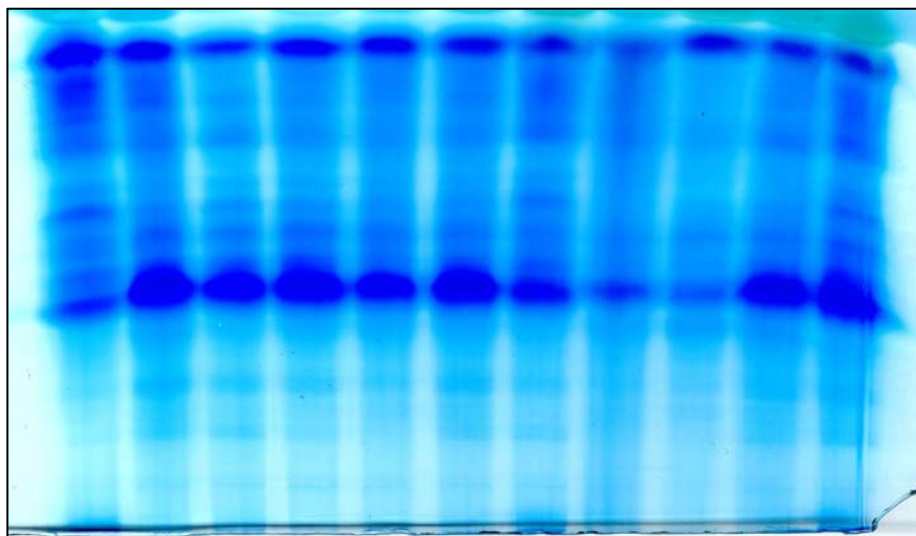
پروتئینی بر روی محور مختصات نشان می‌دهد که درختان پایه نر و ماده در دو گروه متفاوت قرار می‌گیرند (شکل ۵).

علاوه بر اختلاف باندهای پروتئینی در نوع جنسیت، درختان مناطق مختلف نیز از نظر پروتئین‌های محلول با یکدیگر تفاوت‌هایی داشتند. نتایج مقایسه الگوی باندهای درختان پده تفاوت‌هایی را با توجه به حضور یا عدم حضور باند نشان داده است. باند با فاصله تحرک $17/1$ درصد به جز در درختان پرووانانس جلفا در بقیه پرووانانس‌ها حضور داشته است. همچنین باند با تحرک $67/6$ درصد به غیر از پرووانانس‌های سرخس، حمیدیه و منجیل در درختان بقیه رویشگاه‌های مورد بررسی وجود داشته است. از مجموع ۲۲ باند تشکیل یافته موجود، ۹ باند با فواصل تحرک مختلف در کلیه درختان نر و ماده حضور داشته و تمایزی را میان درختان پرووانانس‌های مختلف نشان ندادند.

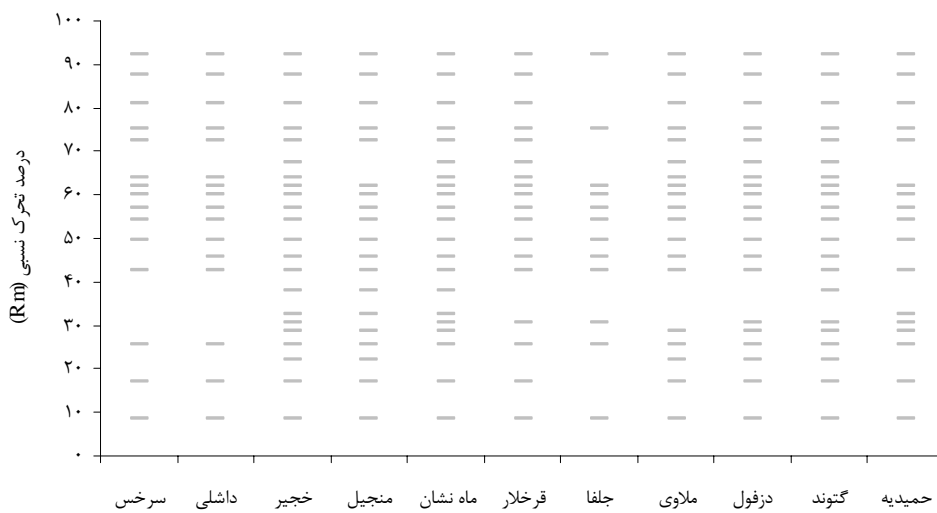
داده حاصل از باندهای پروتئینی درختان نر و ماده پرووانانس‌های پده پس از تعیین حرکت نسبی هر باند و نیز حضور و عدم حضور هر باند در فواصل تحرک مختلف ماتریس داده بر اساس اعداد یک (حضور باند) و صفر (عدم حضور باند) تعیین گردید. سپس بر اساس اعداد کمی هر باند برای درختان رویشگاه‌های مختلف با استفاده از روش



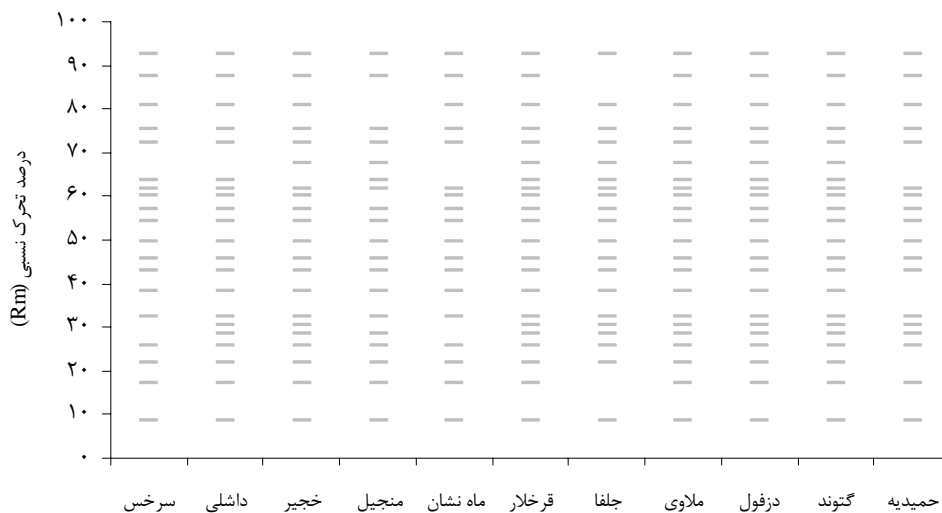
شکل ۱- پروفیل باندهای پروتئین محلول پایه‌های ماده پده در رویشگاه‌های مورد بررسی



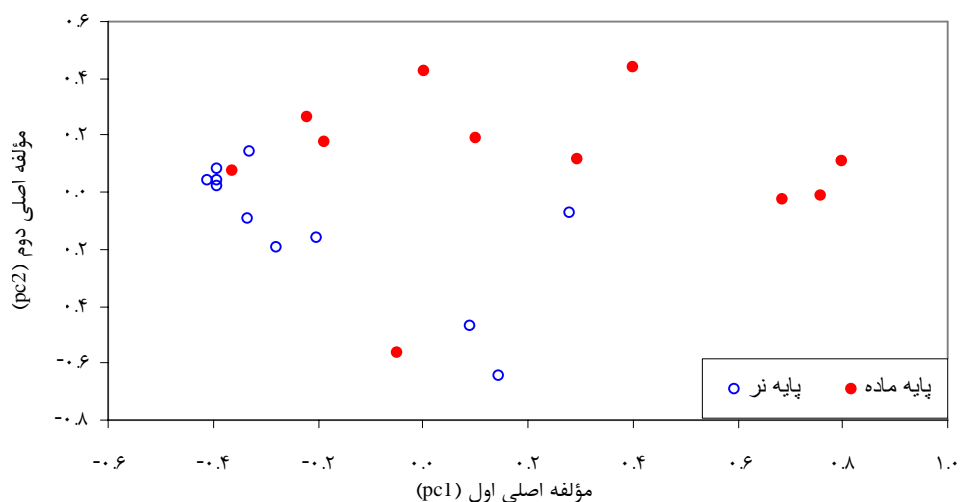
شکل ۲- پروفیل باندهای پروتئین محلول پایه‌های نر پده در رویشگاه‌های مورد بررسی



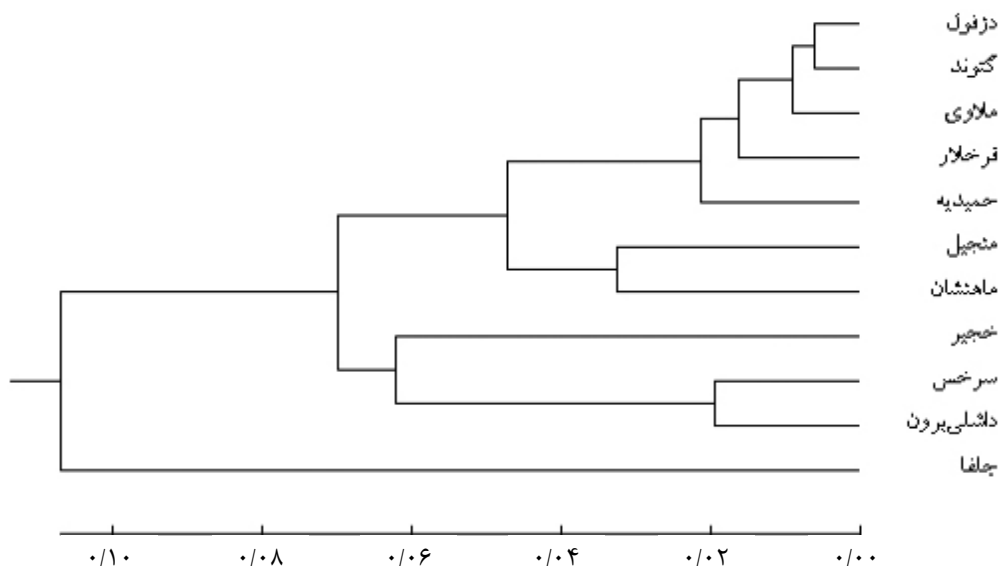
شکل ۳- زیموگرام الکتروفورزی باندهای پروتئین برگ درخت ماده پده در رویشگاه‌های مورد بررسی



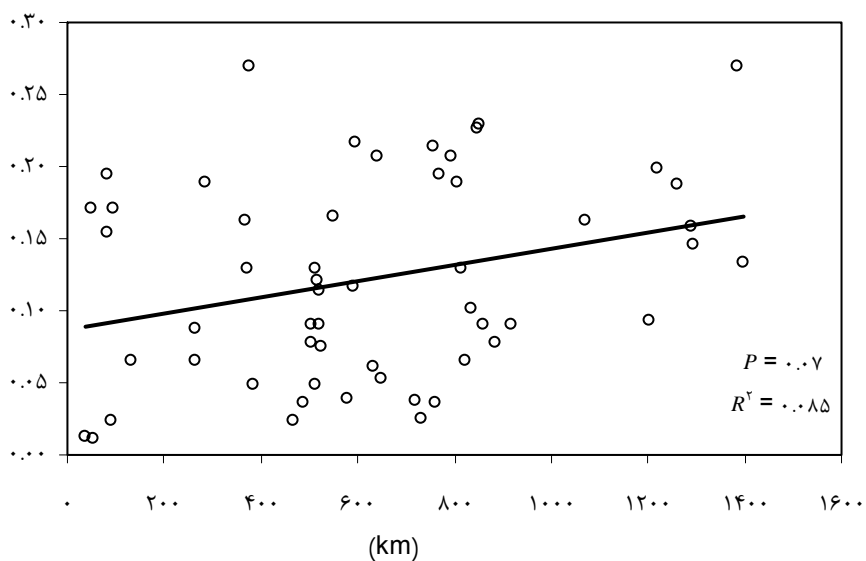
شکل ۴- زیموگرام الکتروفورزی باندهای پروتئین برگ درخت نر پده در رویشگاه‌های مورد بررسی



شکل ۵- رسته‌بندی حاصل از تحلیل مؤلفه‌های اصلی برای پایه‌های درخت نر و ماده با استفاده از الگوی باندهای پروتئینی



شکل ۶ دندروگرام حاصل از تحلیل خوشه‌ای باندهای پروتئینی درختان نر و ماده پده در رویشگاه‌های مورد بررسی



شکل ۷ رابطه همبستگی بین فاصله جغرافیایی و فاصله ژنتیکی میان درختان پده با استفاده از آزمون مانتل

بحث

شود. هرچند که (Brown (1978), Frankel (1984) و (Huh & Huh (2001) اعتقاد دارند که مبداء جغرافیایی بهترین معیار برای انجام آزمایش تغییرات ژنی است ولی بررسی (Kumar & Arora (1992) ارتباط بین تنوع ژنتیکی و توزیع جغرافیایی را منطقی نمی‌داند، از این رو این مسئله نیاز به بررسی‌های بیشتری دارند.

از آنجایی که درختان پده در رویشگاه‌های مورد بررسی به شرایط محیطی سازگار شده‌اند، می‌توان از نتایج بررسی تنوع میان درختان پده می‌توان در برنامه‌های اصلاحی با هدف جنگل‌کاری در مناطق گرم و خشک استفاده کرد. هم‌چنین حفاظت منابع ژنی این گونه از نقطه نظر قابلیت سازگاری در رویشگاه‌های گرم و خشک با خاک شور و قلیا از اهمیت زیادی برخوردار است.

منابع

ثابتی، حبیب‌اله، ۱۳۵۵. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، ۸۱۰ ص. فارغی، شراره، محسن فرشادفر و عزت‌اله فرشادفر، ۱۳۸۶. ارزیابی تعدادی از یونجه‌های چند ساله (*Medicago sativa* L.) بر اساس عناصر شیمیایی و ترکیب‌های غذایی و بررسی تنوع ژنتیکی آنها با استفاده از نشانگر (SDS-PAGE)، فصل‌نامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، ۱۱۵(۳): ۲۱۰-۱۹۶.

کلاگری، محسن، ۱۳۷۶. بررسی جوامع پده در حاشیه رودخانه کارون. پژوهش و سازندگی، انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، ۳۵: ۲۵-۲۰.

Bai, G.B., S.S. Wang, X. Shen & J.K. Li, 2000. Identification of distant hybrids between *Populus talassica* and *P. euphratica* and salt resistance research of *P. euphratica* using electrophoretic protein analysis, *Journal of Beijing Forestry University*, 22(3): 5-7.

Brown, A., 1978. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theoretical and Applied Genetics*, 52: 145-157.

Calagari, M., A. Modirrahmati & F. Asadi, 2006. Morphological variation in leaf traits of *Populus euphratica* Oliv. natural populations, *International Journal of Agriculture and Biology*, 8(6): 754-758.

الگوی باندها در درختان نر و ماده تمایزی را میان پروونانس‌های پده نشان داده است. همان‌طور که در زیموگرام شکل ۲ و ۴ مشاهده شد، پایه‌های ماده دارای تعداد باند کمتری نسبت به پایه‌های نر در کلیه رویشگاه‌ها بودند. بر عکس، در جنس پسته (*Pistacia sp.*) تعداد باندهای پایه ماده بیشتر از پایه نر بود و دلیل آن ارتباط بین پروتئین‌های جوانه گل با وضعیت خواب جوانه گزارش شده است (Golan-Goldhirch, 1995). اختلاف در حضور و عدم حضور باندهای پروتئینی بین پایه‌های نر و ماده پده در پروونانس‌های مختلف با نتایج بررسی Golan-Goldhirch & Shachak, 1998 در مورد پایه‌های نر و ماده درخت پسته هم‌سوئی نشان می‌دهد.

در بررسی حاضر سه خوشه اصلی برای پروونانس‌های مختلف به چشم می‌خورد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه جلفا با رویشگاه‌های سرخس و داشلی‌برون در نواحی شرقی و نیز درختان با مبداء‌های جغرافیایی گتوند و دزفول در ناحیه جنوبی است. تفاوت باندهای پروتئین بین پروونانس‌های جلفا در شمال غرب با رویشگاه‌های سرخس و داشلی‌برون در ناحیه شرقی کشور ممکن است به دلیل حرکت جریان ژن از نواحی شرقی به طرف نواحی غرب و جنوب در گونه پده باشد، به طوری که نتایج بررسی (Shiji et al. (1996 نیز دلالت بر مهاجرت این گونه از باریکه طول جغرافیایی در جهت شرق (کشور چین) به غرب (نواحی غرب آسیا) دارد. هم‌چنین نتایج بررسی مورفولوژیکی برگ نیز تفاوت معنی‌دار درختان پده در رویشگاه سرخس را با سایر رویشگاه‌ها نشان داد (Calagari et al., 2006).

با توجه به همبستگی مثبت و خطی نسبتاً کم بین عوامل ژنتیکی و فاصله جغرافیایی میان پروونانس‌های پده، این رابطه می‌تواند با انتخاب نمونه از فواصل بیشتر جغرافیایی معنی‌دار باشد. بر اساس بررسی (Perry & McIntosh (1991 تمایز به‌وسیله مبداء جغرافیایی در تحقق یافتن مراکز ژن می‌تواند مفید باشد. دانه‌های گرده و بذر سبک گونه‌های صنوبر امکان مهاجرت را می‌تواند از یک منطقه به منطقه دیگر با درجه‌بندی مختلف تراکم جمعیتی به راحتی فراهم کند و این توزیع جغرافیایی می‌تواند سبب تنوع ژنی درختان

- FAO, 1979. Poplar and willow in wood production and land use, FAO Forestry Series, 10: 328p.
- Frankel, O.H., 1984. Genetic perspectives of germplasm conservation, In: Arber, W., k. Limensee, W.J. Peacock, P. Starlinger, Genetic manipulation: impact on man and society, 161-170, Cambridge University Press, Cambridge.
- Golan-Goldhirsch, A. 1995. Proteins associated with reproductive male bud development in Pistachio, *Acta Horticulture*, 419: 19-25.
- Golan-Goldhirsch, A. & A. Shachak, 1998. Immunological cross-reaction between bud and bark proteins of dormant deciduous trees, *Scientia Horticulturae*, 73: 165-173.
- Gu, R., Q. Liu, D. Pei & X. Jiang, 2004. Understanding saline and osmotic tolerance of *Populus euphratica* suspended cells, *Plant cell, tissue and organ culture*, 78: 261-265.
- Huh, M.K. & H.W. Huh, 2001. Genetic diversity and population structure of wild lentil Tare, *Crop Science*, 41: 1940-1946.
- Kumar, L. & P.P. Arora, 1992. Multivariate analyses in chickpea, *Indian Journal Pulses Research*, 5: 1-5.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Lone, A.A. & S.K. Tewari, 2006. Protein banding profile study in *Populus deltoids* Bartr. Clones, *Indian Journal of Forestry*, 29(4): 453-455.
- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach, *Cancer Research*, 27: 209-220.
- Mohd, S., K. Ikhtiar, A. Zahir, A. Waqar, A. Taufiq & Z. Alam, 2007. Evaluation of different wheat varieties by SDS-PAGE electrophoresis, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(10): 1667-1672.
- Mukhlesur, R.M. & Y. Hirata, 2004. Genetic diversity in Brassica species using SDS-PAGE analysis, *Journal of Biological Sciences*, 4(2): 234-238.
- Peakal R., and Smouse P.E. 2006: GenAIEx 6: genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research, *Moleocular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Perry, M.C. & M.S. McIntosh, 1991. Geographical patterns of variation in the USDA soybean germplasm collection: I. Morphological traits, *Crop Science*, 31: 1350-1355.
- Nei, M. & W.H. Li, 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.*, 76: 5269-5273.
- Shiji, W., C. Binghao & L. Hugun, 1996. Euphrates poplar forest. China Environmental Science Press, 117 pp.
- Son, H.S., H.K. Moon, & R.B. Hall, 1993. Somaclonal variation in plants regenerated from callus culture of hybrid aspen (*Populus alba* L. x *P. grandidentata* Michx), *Plant Science*, 90(1): 89-94.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei & S. Kumar, 2007. Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0., *Moleculular Biological Evolution*, 24: 1596-1599.
- Wang, W., D. Pelah, A. Altman, O. Shoseyov, W.X. Wang & M. Ziv, 1997. Clonal differences in the expression of a water stress related protein (BSPA) in *Populus spp.* *Acta-Horticulture*, 447: 467-468.

Study of genetic variation in *Populus euphratica* Oliv. by evaluating soluble proteins through SDS-PAGE

M. Calagari^{*1} and P. Salehi-Shanjani¹

¹Member of Scientific Board of the Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I. R. Iran

(Received: 6 March 2010, Accepted: 19 September 2010)

Abstract

Populus euphratica Oliv. Distribute naturally in vast regions of Iran and is native species in arid and semi arid areas. Geographical and climatical diversity of this species in distributed area in different sites results in the morphological and genetic variation between trees. In order to study genetic diversity between male and female trees, protein evaluation (SDS-PAGE) was conducted on 44 leaf extracts samples of 11 natural provenances that were different in environmental factors like elevation, longitude and latitude. Leaf protein bands for male and female in studied provenances was shown on gel and each band position was located by related mobility. In total 22 separated bands were appeared on gel with different mobility. The results of protein bands showed that male and female trees contain different patterns at different distances, whereas male trees had more bands than female trees. Also result of principal components analysis (PCA) showed differences between male and female trees. Grouping of *P. euphratica* provenances showed that, provenances of east and south classified in different groups. Also provenances of Golfa in North west classified in different group. In spite of the correlation between geographical distance and genetic distance among all provenances ($P=0.07$) this correlation statistically was not significant.

Key words: *Populus euphratica*, Protein, Geographic diversity, Genetic diversity, SDS-PAGE.