جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۹، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۳٤٤-۳۳۷ (۱۳۹۰)

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

حامد یوسف‌زاده[۱]، اباصلت حسین‌زاده کلاگر[۲*]، مسعود طبری[۳]، علی ستاریان[٤] و مصطفی اسدی[٥]

۱- کارشناس‌ارشد جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
۲*- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر
پست الکترونیک: ahcolagar@umz.zc.ir
۳- دانشیار، جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
٤- استادیار، جنگل‌داری، مجتمع علوم کشاورزی و منابع طبیعی گنبد
٥- استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۲٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۷/۲٤

چکیده

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

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

مقدمه

تأثیرپذیری اندک از عصر یخبندان (دوره پلیستوسئن)، تنوع و غنای زیستی بالا و حضور حدود ۱٤٦ گونه چوبی با قدمت طولانی و حضور انحصاری برخی از آنها در طول دامنه شمالی رشته کوه‌های البرز، سبب شکل‌گیری یکی از قدیمی‌ترین و متنوع‌ترین جنگل‌های پهن‌برگ در امتداد سواحل جنوبی دریای مازندران، به‌عنوان یکی از مهمترین ذخیره‌گاه‌های گیاهی زیست‌کره گردید. قابلیت بسیار بالای چوب گونه نمدار (*Tilia* sp.) در صنایع دستی و مصارف مختلف صنعتی و همچنین سرشاخه‌زنی آن جهت تغذیه دام، سبب کاهش سهم پنج درصدی آن در سال ۱۳۷٤، به یک درصد در سال ۱۳۸۱ شد

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(Khosravi, 2002). از آنجایی که این میزان تخریب مطمئناً سبب فرسایش ژنتیکی و از دست رفتن بسیاری از ذخایر ژنتیکی این گونه ارزشمند گردید، تعیین تشابه و یا تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های گیاهی نمدار، بر اساس روش‌های مستقل از محیط، می‌تواند کمک شایانی جهت بکارگیری روش‌های مدیریتی مناسب به منظور حفاظت، احیاء و توسعه آن نماید. اگرچه امروزه نشانگرهای مولکولی به راحتی این امر را محقق می‌نمایند، اما نشانگرهای بیوشیمیایی نیز به‌دلیل ارزانی، عدم تأثیرپذیری از شرایط محیطی و وجود چندشکلی پروتئینی واضح کاربرد بالایی در ژنتیک حفاظت دارند (Krishnan & Sleper, 1997 و Gilliland *et al.*, 2000). از آنجایی که بروز ژن‌ها با تولید محصولات پروتئینی همراه است، چند شکلی در الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، می‌تواند بیانگر میزان تشابهات و اختلافات ژنتیکی بین گیاهان و یا جمعیت‌های گیاهی که با یکدیگر مقایسه می‌شوند، باشد. بر این اساس مطالعات زیادی روی بسیاری از گونه‌های گیاهی ازجمله گونه *Populus euphratica* (Calagari & Salehi, 2010)، گونه *Fagus sylvatica* (Busov, 1993)، جنس *Quercus* L. (Rogl *et al.*, 1996) و تیره *Fagaceae* (Collada *et al.*, 1988) انجام گرفته است. گزارش‌های ذکر شده، کارایی الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر را در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های گیاهی تایید کردند و نشان دادند که نیمرخ پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به دلیل عدم تأثیرپذیری از شرایط محیطی اطلاعات تاکسونومیکی مفیدی را فراهم می‌نماید. Stoyanova & Boller (2010) با بررسی تنوع ٤٥ ژنوتیپ *Festuca pratensis* بکارگیری الگوی الکتروفورزی بذر را به دلیل قدرت تفکیک و تکرارپذیری بالا، روشی مناسب برای شناسایی ژنوتیپ‌های مختلف این گونه معرفی نموده‌اند. در ضمن Rogl و همکاران (۱۹۹٦) الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر را تکنیکی مناسب برای تمایز ژنتیکی دو گونه *Quercus ruber* و *Quercus petraea* از یکدیگر، پیشنهاد نمودند. نظر به اینکه مطالعه الگوی الکتروفورزی بذر در جنس نمدار در شمال ایران، تاکنون گزارش نشده و با توجه به عدم تأثیرپذیری نیمرخ الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر از شرایط محیطی (Mclendon *et al.*, 1993؛ Ladizinsky & Hymowitz, 1979)، تحقیق حاضر به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی نمدار بر اساس الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر و میزان تطابق نتایج آن با نتایج تنوع ریختی بذر و احتمال ژنتیکی بودن مورفوتیپ‌های مختلف نمدار معرفی شده در سطح جنگل‌های هیرکانی (Yousefzadeh *et al.*, 2010) انجام شده است.

مواد و روشها

شناسایی رویشگاه‌ها و جمع‌آوری نمونه

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در سطح جمعیت‌های نمدار، ٥ جمعیت دلیر، چمستان، ولیک‌بن، بندبن و لوه که قبلاً توسط Yousefzadeh و همکاران (۲۰۱۰) مطالعه تنوع تیپ‌های ریختی میوه آنها انجام شد، انتخاب گردیدند (جدول ۱). از هر جمعیت تعداد ٤ تا ۷ پایه انتخاب و میوه آنها جمع‌آوری شد. میوه‌ها بعد از جمع‌آوری، در یکی از تیپ‌های ریختی مطالعه شده توسط Yousefzadeh و همکاران (۲۰۱۰) مطابق جدول ۲، دسته‌بندی شدند.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

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

منطقه	استان	شهر	عرض جغرافیایی*	طول جغرافیایی*	ارتفاع از سطح دریا*	ترکیب توده
دلیر	مازندران	چالوس	٤٠٢٠٤٢٣	٥٠٨٢٥٠	۱۹۰۰-۲۲۰۰	افرا- ممرز- زبان گنجشک
چمستان	مازندران	نور	٤٠٣٩٥٩٧	٥٩٦٤١٢	٥٠	نهالستان
بندبن	مازندران	سواد کوه	٣٩٨٥٦١٢	٦٩٩٥٢٥	۲۳۰۰-۲۷۰۰	توس- تیس-آوری- نمدار
ولیک‌بن	مازندران	ساری	٤٠٠٠٣١٢	٠٦٥٩٢٢١٠	۱۲۰۰-۱۳۵۰	راش- افرا- ممرز
لوه	گلستان	گالیکش	٤١٣٠٣٥٢	٣٨٠٤٠٦	۱۱۰-۱۳۵۰	افرا- ممرز- نمدار

- مقیاس به واحد UTM است.

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

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

روش استخراج و انجام الکتروفورز

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

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

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

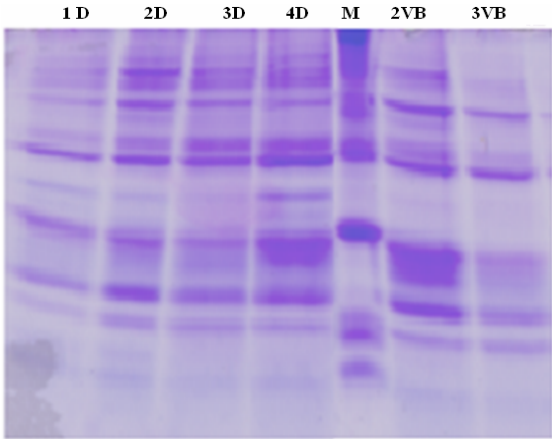
پروتئین محلول استخراج شده از هر نمونه، با استفاده از ژل جداکننده ۱۲/۵ درصد آکریلامید الکتروفورز شدند و به روش عمومی رنگ‌آمیزی با کوماسی‌بلو R250 (که شامل متانول، اسید استیک و آب مقطر به‌ترتیب به مقدار ۰/۲۵ گرم کوماسی‌بلو، ۱۲۰، ۲۵، ۱۰۰ میلی‌لیتر است) رنگ‌آمیزی شد و با محلول رنگ‌بر عمومی (با اختلاط به‌ترتیب،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

تجزیه و تحلیل

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

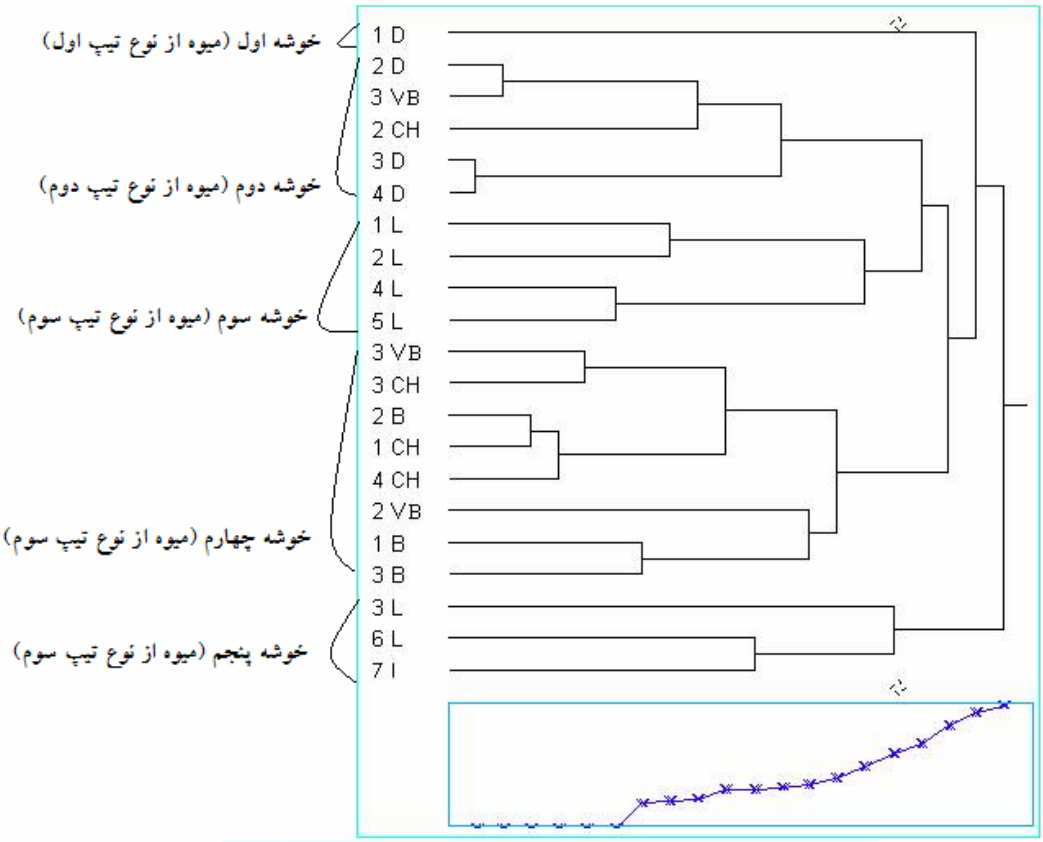
نتایج

براساس نتایج الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، نمونه‌های مورد مطالعه در ۵ گروه مجزا از یکدیگر قرار گرفتند (شکل‌های ۱ و ۲) و تفکیک پایه‌ها از یکدیگر تا حد بسیار زیادی منطبق با خصوصیات ریختی بذر بود (شکل ۲). در گروه اول که درخت شماره ۱ دلیر به تنهایی در آن قرار گرفت، بذر کاملاً گرد و مدور، پوسته بسیار نازک و کاغذی و برخلاف بذر سایر درختان مورد مطالعه در این تحقیق بدون برجستگی (Rib) بود. بذر درختان گروه دوم و چهارم دارای برجستگی و پوسته تقریبا سخت می‌باشد، اما درختان گروه سوم با بذرهایی با کرک‌های انبوه و به رنگ حنایی، مختص به شرقی‌ترین مناطق جنگل‌های هیرکانی، به راحتی از سایر گروه‌ها تفکیک شدند. درختان گروه پنجم نیز که همانند درختان گروه سوم متعلق به منطقه لوه بودند، به دلیل خصوصیات ریختی کاملاً متفاوت (بدون کرک حنایی روشن) و در گروهی مجزا با درختان گروه سوم قرار گرفتند.



شکل ۱ – الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر پایه‌های درختی مختلف در ژل SDS-PAGE :

(M = مارکر پروتئینی؛ D : دلیر؛ Vb: ولیک‌بن؛ B: بندبن؛ L: لوه؛ Ch: چمستان)



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

جدول ۳ – فاصله ژنتیکی پایه‌های مورد تحقیق با یکدیگر

فاصله	شماره پایه‌ها		فاصله	شماره پایه‌ها	
۲/۱٤	۲ بندبن	۳ ولیک‌بن	۰	٤ دلیر	۳ دلیر
۲/۲٤	۷ لوه	٦ لوه	۰	۲ ولیک‌بن	۲ دلیر
۲/۲۷	۳ دلیر	۲ دلیر	۰	۱ چمستان	۲ بندبن
۲/٤	۱ بندبن	۲ ولیک‌بن	۰	٤ چمستان	۲ بندبن
۲/۹	۳ ولیک‌بن	۲ ولیک‌بن	۰	۳ چمستان	۳ ولیک‌بن
۳/۵۳	٤ لوه	۱ لوه	۰	۵ لوه	٤ لوه
٤/۲٦	٦ لوه	۳ لوه	۱/۳۹	۵ لوه	۱ بندبن
۵/۸۲	۳ ولیک‌بن	۲ دلیر	۱/٤٦	۲ لوه	۱ لوه
٦/۷	۲ دلیر	۱ دلیر	۱/٦۱	۲ چمستان	۲ دلیر
۷/۱٤	۳ لوه	۱ دلیر	۱/۸٦	۱ لوه	۲ دلیر

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

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

بحث

از آنجایی که پروتئین‌ها نتیجه عملکرد بیان ژن می‌باشند، از این رو الگوی متفاوت الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر می‌تواند بیانگر وجود تنوع ژنتیکی در سطح جمعیت‌های نمدار باشد. اما آنچه جالب توجه است وجود تنوع در داخل افراد یک جمعیت به‌ویژه جمعیت لوه هم از طریق نتایج ریختی بذر و هم الگوی پروتئینی بذر است. در واقع در جمعیت‌های شرق جنگلهای هیرکانی دو تیپ ریختی بذر (جدول ۲، تیپ دوم و سوم) وجود دارد که الگوی پروتئینی ذخیره‌ای بذر نیز آنها را در دو گروه کاملاً متفاوت (شکل ۲، خوشه سوم و پنجم) قرار داد. وجود تغییرات ژنتیکی درون جمعیتی، یک مزیت تکاملی برای گونه در شرایط محیطی بی‌ثبات و نتیجه تبادل ژنتیکی ژنوتیپ‌های متفاوت با یکدیگر است (Endler, 1977). این مسئله در مطالعات تکاملی جهت تعیین ارتباط گونه‌های مختلف یک جنس اثبات شده است (Mirali *et al.*, 2007). البته وجود تنوع درون جمعیتی بالا در جنس نمدار، با توجه به سیستم گرده‌افشانی این جنس (حشره گرده‌افشان)، سؤال‌برانگیز است، زیرا در گونه‌های حشره گرده‌افشان به دلیل وجود تبادل ژنتیکی بین پایه‌های درختی در سطح یک جمعیت، وجود تنوع درون جمعیتی بالا قابل انتظار نیست (Hamrick, 1989). بنابراین، توجیه این مسئله به دو حالت امکان‌پذیر است. اول، بین جمعیت‌های گیاهی این گونه از طریق گرده‌افشانی توسط باد تبادل ژنتیکی وجود دارد. این وضعیت حداقل برای دو جمعیت‌بندبن و دلیر که به لحاظ موقعیت جغرافیایی امکان تبادل ژنتیکی را با سایر جمعیت‌ها ندارند، صادق نمی‌باشد. دوم، احتمال حضور گونه‌های متفاوت از جنس نمدار در یک رویشگاه (Sympatric) و احتمال وقوع هیبریداسیون بین آنها. باید اضافه کرد که این موضوع برای بسیاری از گونه‌های جنس نمدار گزارش شده است (Ayers, 1976).

جمع‌بندی

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

منابع مورد استفاده

– Khosravi, A., 20۰2. History and executive document of forestry plans inside country, Technical forestry office, Forests and Rangelands Organization of Iran.

– Ayers, G. S., 1993. Reconsidering the basswoods: 11. The native American basswoods. American Bee Journal, 133: 337-340.

– Busov, V., 1993. Variability of SDS-PAGE detected polymorphic fractions of beech seed proteins in Bulgarian natural populations. In: Muhs, H. J. and Wuehlisch, G. V. (eds): The Scientific Basis For The Evolution of Forest Genetic Resources of Beech. Working Document of the EC, Brussels: 157-170.

– Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.

– Collada, C., Caballero, R. G., Casado, R., and Aragoncillo, C., 1988. Different types of major storage seed proteins in fagaceae species. Journal of Experimental Botany, 39: 1751-1758.

– Calagari, M. and Salehi-Shanjani, P., 2010. Study of genetic variation in *Populous euphratica* Oliv. by evaluating soluble proteins through SDS-PAGE. Iranian Journal of Forest Fall, 2: 253-275.

– Endler, J. A., 1977. Geographical variation, speciation and clines. Princeton, NJ, USA: Princeton University Press.

– Gilliland, T. J., Coll, R., Calsyn, E., De Loose M., Van Eijk, M. J.T. and Roldan-Ruiz I., 2000. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties.1. Morphology and biochemical characterisation. Molecular Breeding, 6: 569–580.

– Hamrick, J. L., 1989. Isozymes and analyses of genetic structure of plant populations. In: Soltis, D and Soltis, P. (eds.) Isozymes in Plant Biology, Discorides Press, Portland Oregon. 87-105.

–Krishnan, H. B. and Sleper, D. A., 1997. Identification of tall fescue cultivars by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis of seed proteins. Crop Science, 37: 215–219.

– Ladizinsky, G. and Hymowitz, T., 1979. Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies. Theoretical and Applied Genetics, 54: 145-157.

– Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227:680-685.

– Mclendon, M. E., Lanning, S. P., Mcguire, J. M. and Talbert, L. E., 1993. Variation of seed storage proteins within hard red spring wheat cultivars and effect on end-use properties. Cereal Chemistry, 70: 607-610.

– Mirali, N., EL-Khouri, S. and Rizq, F., 2007. Genetic diversity and relationships in some Vicia species as determined by SDS-PAGE of seed proteins. Biologia Plantarum, 51: 660-666.

– Rogl, S., Javornik, B., Sinkovic, T. and Batic, F., 1996. Characterization of oak (*Quercus* L) seed proteins by electrophoresis. Phyton-Annales Rei Botanicae, 36, 159-162.

– Stoyanova, S. and Boller, B., 2010. Seed protein electrophoresis for assessment of genetic variation within genotypes of meadow fescue. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 46: 75-81.

– Yousefzadeh, H., Tabari, M., Hosseinzadeh Colagar, A., Assadi, M. and Sattarian, A., 2010. Morphotypes of *Tilia spp.* fruits in Hyrcanian forests. Rostaniha, 11:43-53

– Westermeier, R., 1997. Electrophoresis in Practice, A Guide to Method and applications of DNA and Protein Separations, Chapter 1, Electrophoresis; 2nd eds; VCH. A Wiley Company; pp. 6-39.

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

H. Yousefzadeh [1], A. Hosseinzadeh Colagar*[2], M. Tabari[3], A. Sattarian[4] and M. Assadi[5]

1-Ph.D. Student, Department of Forestry, Tarbiat Modares University, Noor, I.R.Iran
2*-Corresponding author, Assoc. Prof., Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R.Iran. E-mail: ahcolagar@umz.zc.ir
3- Assoc. Prof., Department of Forestry, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
4-Assis. Prof., Department of Forestry, Agriculture and Natural Resources of Gonbad University, Gonbad, I.R.Iran
5- Prof., Research Institute of Forests and Rangelands of Iran, Tehran. I.R.Iran

Received: 16.01.2011 Accepted: 16.10.2011

Abstract

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

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