مطالعه تنوع درون گونه‌ای جمعیت‌های گونه لور (*Carpinus orientalis Mill*) با استفاده از الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر[۱]

اباصلت حسین‌زاده کلاگر[۲*]، مهسا رزاز[۳]، علیرضا نقی‌نژاد[۴]، آرمان محمودی اطاقوری[۵]

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۳
تاریخ تصویب: ۹٤/۸/۳۰

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

---

[۱] برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد به راهنمایی دکتر آرمان محمودی اطاقوری دکتر علیرضا نقی نژاد و دکتر اباصلت حسین زاده کلاگر- دانشگاه مازندران

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

[۳] کارشناس سیستماتیک اکولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر

[٤] دانشیار سیستماتیک اکولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر

[٥] 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 نمونه های گیاهی از جمعیت‌های جنگلی استان های 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-گلایسن انجام شد و پس از تعیین غلظت به روش برادفورد الگوی باندی الکتروفورزی مورد بررسی گرفت. آنالیز داده‌های ریخت شناسی 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 باندی 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 تفاوت هایی 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

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، ۱۳۸٤). در واقع، تنوع توپوگرافی و حضور پوشش گیاهی از ارتفاع 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 برمی گردد (پارساپژوه، ۱۳۷۲). متاسفانه، سالیان متمادی است که تخریب، بهره برداری و

قاچاق چوب، سبب کاهش مساحت جنگل های هیرکانی در حال حاضر گردیده است.

یکی از جنس‌های گیاهی ارزشمند که از اروپای جنوبی تا جنگل های 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 ٦ 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 کوتاه تر و بسیار منشعب‌تر است و در مناطق رو به آفتاب و صخره‌ای رشد می‌کند. بین پژوهشگران مختلفی که روی جنس ممرز کار می کنند، 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 جنگل ها، درختان و درختچه‌های خود برای این جنس در ایران چهار گونه ممرز، تغر (*C. macrocarpa* Willk.)، کچف و لور قائل است. بنابراین ماهیت اصلی این گونه‌ها و هیبریدها کاملا مشخص نشد. همچنین هنوز اتفاق نظری در مورد زیرگونه‌های احتمالی گونه لور در ایران وجود ندارد، درحالیکه تعدادی از تاکسونومیست ها 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 گونه های 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 گونه های جنس ممرز در شمال ایران ضروری است.

شناساگرهای مولکولی نظیر DNA و یا پروتئین می توانند به عنوان ابزا های مفید و قابل اعتمادی در شناسایی، تعیین تنوع ژنتیکی و بررسی روابط خویشاوندی گونه‌های گیاهی استفاده شوند. الگوی الکتروفورزی پروتئین ها می تواند باند هایی را به عنوان شناساگرهای مولکولی معرفی کند (Criley *et al.,* 2008; Tamkoc and Arsalan, 2010). بنابراین، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر می‌توانند در شناسایی گونه‌ها

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 رویشگاه های مختلف یک گونه و روابط فیلوژنتیکی در میان بذرهای جمع آوری 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 علوفه ای که به نوعی تأمین‌کنندهٔ 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* (Calagariand Salehi,2010) جنس *Quercus* L. (Rogl *et al.*, 1996) و تیره Fagaceae (Collada *et al.*, 1988) 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.

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 (جدول۱). به منظور مطالعات ریخت شناسی ۲۸ صفت شامل ۱۳ صفت کمی و ۱۵ صفت کیفی (جدول۲) 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 گلایسین ۰/۰۸ مولار با pH =۸/۲) انجام گرفت. کمیت پروتئین های استخراجی با استفاده از روش عمومی برادفورد با آلبومین سرم گاوی یا BSA (Bovine serum albumin) به عنوان پروتئین استاندارد، اندازه گیری شد (Bradford, 1976). برای

این منظور از نسبت نمونه به معرف برادفورد که ۱ به ۵۰ است، استفاده شد و از غلظت‌های ۱-۰/۱ میلی‌گرم در لیتر از نمونه پروتئین BSA به عنوان استاندارد استفاده شد. به این نحو که ابتدا حجم‌های (۰، ۲۰، ٤۰، ٦۰، ۸۰، ۱۰۰) میکرولیتر از محلول ذخیره (1mg/ml, BSA) در لوله‌های آزمایش ریخته شد. حجم همه لوله‌ها با بافر حلال نمونه به ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه های 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 آن ها در ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید و با استفاده از منحنی استاندارد (شکل۲-۲) غلظت نمونه‌های مجهول محاسبه شد.

جدول ۱- مکان و ارتفاع نقاط جمع آوری جمعیت‌های مورد مطالعه از گونه لور *Carpinus orientalis* Mill.

کد اختصاری*	شماره هرباریومی**	استان و محل جمع‌آوری	عرض جغرافیایی (UTM)	طول جغرافیایی (UTM)	ارتفاع از سطح دریا (m a.s.l.)
ori1-1	۱۵۱٤	گلستان؛ تنگراه، نزدیک جاده	۳۷۲۲۲۸	۵۵۵۷۱۷	٦۵۰
ori 1-6	۱۵۲۱	خراسان شمالی؛ درکش، کانی گندی	۳۷۲۵٤۵	۵٦٤۳٤۹	۱۳۰۰
ori 1-10	۱۵۲۲	خراسان شمالی؛ درکش، پیازکوه، قجی	۳۷۲۵۵٦	۵٦٤۳۳٤	۱٤۰۰
ori 2-13	۱۵۲۷	گلستان؛ پارک ملی گلستان	۳۷۲۲۲۳	۵۵۵۳۵٦	۷۰۰
ori 4-1	۱۵۲۵	گیلان؛ رشت، رستم‌آباد، عمارلو، سیبن، آربوناو، چی چال	۳۷۲۵۱۰	۵٦٤٤۵۳	۱٦۰۰
ori 4-3	۱۵۲٦	گیلان؛ رشت، رستم‌آباد، عمارلو، سیبن، آربوناو، چی چال	۳۷۱۰۱۱	۵٦٤٤۵٤	۱۸۰۰
ori 3-10	۱۵۱۸	مازندران؛ باغ گیاه شناسی نوشهر	-	-	-۲۱
ori 3-7	۱۵۲٤	مازندران؛ ساری، جنگل کیاسر	۳٦٤٤۳۵	۵٤٤۸۵۷	۱٤۰۰
ori 3-12	۱۵۲۰	مازندران؛ چالوس، جاده کندوان، ولی‌آباد	۳۷۲٤٤۵	۵٦٤٤٤۹	۱۷۰۰

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

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

جدول۲-صفات ریخت شناسی 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
٤	طول دمبرگ	Petiole length	PL	سانتی متر
٥	طول دمبرگ به طول برگ	PL/LL	RPLL	سانتی متر
٦	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	تعدادلوب های میوه	Number of lobes on fruit bracts	NLFB	یک عدد:۱/ دوعدد:۲/ سه عدد: ۳
۱٤	گوشوارک	Stipule	SU	دارد:۱/ ندارد: ۰
۱٥	کرک حاشیه برگ	Leaf margin trichomes	LMT	دارد:۱/ ندارد: ۰
۱٦	براکته میوه	Fruit bracts	FBS	متقارن:۱/ نا متقارن:۰
۱۷	حاشیه دندانه دار لوب میانی میوه	Serrate margin on the middle lobe of bracts	SMLB	بدون دندانه:۰/ در یک طرف دندانه دار:۱/ در دو طرف دندانه دار: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
۲٤	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
۲٦	شکل انتهای برگ	Lamina tip	LT	تیز:۱/ تیز به ندرت باریک:۲ / تیز به ندرت گرد:۳/ گرد به ندرت تیز:٤
۲۷	شکل قاعده برگ	Lamina base shape	BL	گرد:۱/ گرد به ندرت قلبی:۲/ قلبی:۳/ قلبی به ندرت گرد:٤
۲۸	شکل برگ	Lamina shape	TL	تخم مرغی:۱/ تخم مرغی به ندرت بیضی:۲/ بیضی به ندرت تخم مرغی:۳/ بیضی:٤

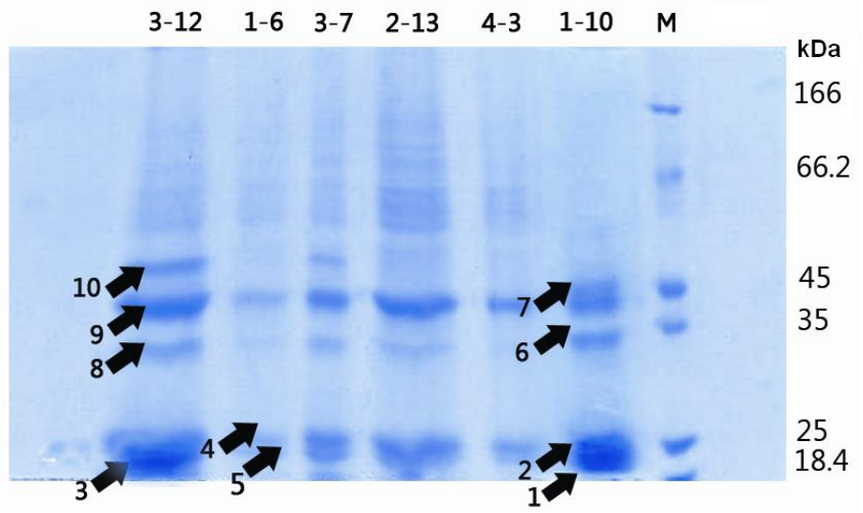
نتایج

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 می شود. زیر گروه اول شامل جمعیت‌های تنگراه، قجی، آبشهر و چی چال (۱۸۰۰متر) و زیر گروه دوم شامل جمعیت‌های کانی گندی، کیاسر، نوشهر و چی چال (۱٦۰۰متر) می‌باشد.

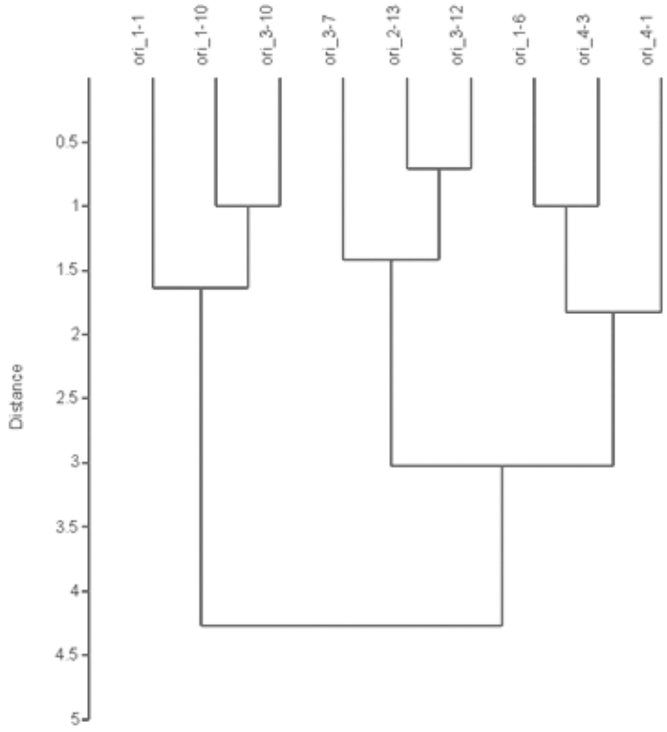
الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره ای بذر برای جمعیت‌های مورد مطالعه، الگوی ۱۰ باندی را نشان داد که در ۱۰ نوع باند مختلف پروتئینی ظاهر گردیدند. بطوریکه بیشترین تعداد باندها به جمعیت‌های چالوس و کیاسر با ۵ باند و کمترین تعداد به جمعیت چی چال (۱۸۰۰متر) با ۲ باند مربوط بود. باندهای ظاهر شده در محدوده ٦٦/۲-۱۸/٤ کیلو دالتون (kDa) بودند. بیشترین تعداد باند ها در محدوده پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۱۸/٤ تا ۳۵ کیلودالتون و کمترین تعداد در محدوده

پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۳۵ تا ٤٥ قرار داشتند. همچنین تعدادی از باندها در محدوده پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ٤٥ تا ٦٦/٢ مشاهده شدند. با اینکه میزان پروتئین‌های بار شده به داخل همه چاهک ها یکسان بود، باندها از لحاظ تراکم و شدت، اختلاف نشان دادند (شکل۱). 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، باند٤ 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 ٥ در جمعیت‌های کانی گندی و کیاسر، باند ٦ 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 باند ها به وضوح در جمعیت‌های کانی گندی، کیاسر، چی چال (۱۸۰۰متر) و قجی قابل رویت بود و باند ۱۰ فقط مختص جمعیت چالوس بود. در جمعیت چی چال (۱٦۰۰متر) هیچ باندی مشاهده نشد.

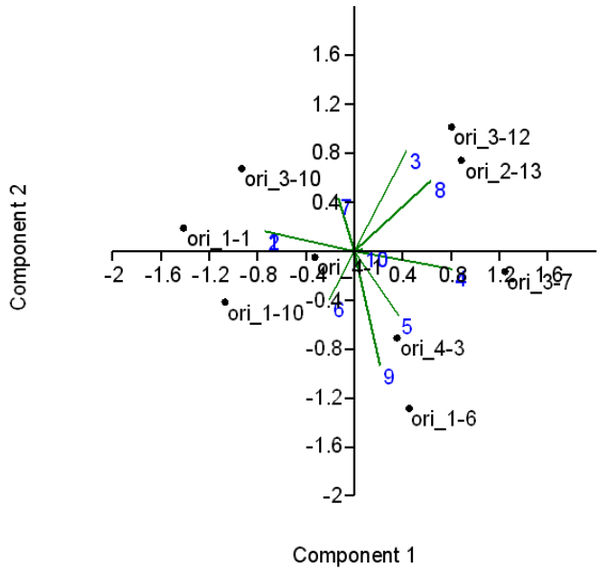
جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس کلاستر حاصل از مطالعات پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به دو گروه تقسیم شدند (شکل۱)؛ به طوری که گروه اول شامل جمعیت‌های تنگراه، قجی و نوشهر و گروه دوم به دو زیر گروه بدین صورت که زیر گروه اول شامل چالوس، آبشهر و کیاسر و زیر گروه دوم شامل جمعیت‌های کانی گندی، چی چال (با ارتفاع ۱٦۰۰متر از سطح دریا) و چی چال (با ارتفاع ۱۸۰۰متر 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 ٤٠ درصد واریانس تجمعی 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 ٤، ٥، از اهمیت بیشتری برخوردار بودند. باندهای ٦، ۷ و ۱۰ نقش کمتری در جدایی جمعیت‌ها داشتند.



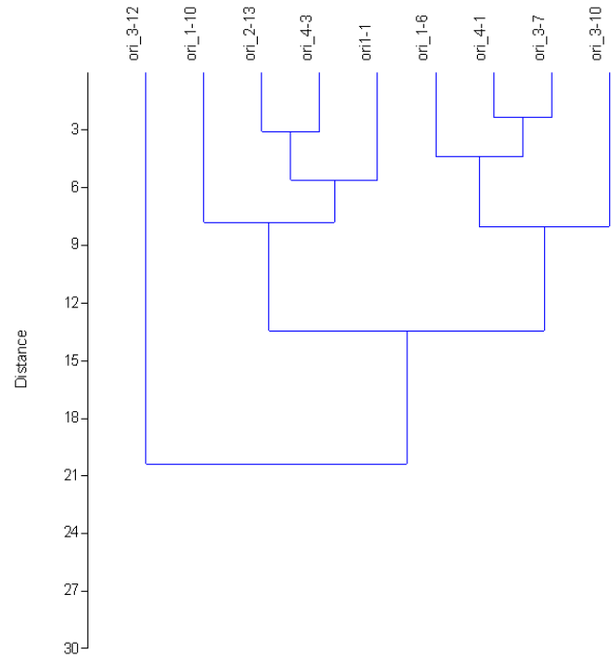
شکل۱- الگوی الکتروفورزی پروتئین های ذخیره‌ای بذر پایه‌های درختی مختلف در ژل SDS-PAGE



شکل۲- تجزیه خوشه‌ای الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر حاصل از جمعیت‌های لور



شکل۳- 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، سیبن، آربوناو، چی چال؛ ori4-3 = گیلان، رشت، رستم آباد، عمارلو، سیبن، آربوناو، چی چال



شکل۳- 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، سیبن، آربوناو، چی چال؛ ori4-3= گیلان، رشت، رستم آباد، عمارلو، سیبن، 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 ٥ مختص جمعیت‌های کانی گندی و کیاسر، باند ٦ مختص جمعیت‌های قجی و تنگراه و باند ۷ مختص جمعیت‌های چالوس و تنگراه، باند ۱۰ مختص جمعیت چالوس و باندهای ۱ و ۲ به جمعیت‌های تنگراه، قجی و نوشهراختصاص داشت. از این رو می توان از این باندها برای تفکیک جمعیت‌های این گونه از یکدیگر استفاده نمود. نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز تاثیر باندهای فوق را در گروه‌بندی جمعیت ها تایید کرد; به طوری که باندهای شماره های ۱ و ۲ که در جمعیت‌های کیاسر، آبشهر، چالوس، کانی گندی و چی چال دیده نشدند بیشترین نقش را در گروه‌بندی داشتند و احتمالا به دلیل عدم حضور این دو باند در جمعیت‌های ذکر شده، تجزیه خوشه ای، سایرجمعیت ها یعنی تنگراه، قجی و نوشهر را در خوشه‌ای جدا از سایر جمعیت‌ها قرار داد. این باندها در محدوده وزنی حدود ۳۵-۱۸/٤ کیلودالتون قرار داشتند. بنابراین می توان 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). اخیرا یوسف زاده و همکاران (۱۳۹۰) نیز با مطالعه همسویی الگوی پروتئینی بذر جمعیت های 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.

مقایسه دو درخت حاصل از مطالعات ریخت‌شناسی و پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، گویای این واقعیت است که جمعیت چالوس که از لحاظ ریخت شناسی 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 ریخت شناسی در شرایط اقلیمی متفاوت می‌باشد (Jones and Wilkins, 1971). همچنین محققان قسمتی از تنوع صفات ریخت شناسی 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; Hydiumayi, 2003; Levin, 1985) و قسمتی دیگر را ناشی از وجود تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌دانند. می توان 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 قجی که صفات ریخت‌شناسی تقریباً مشابهی دارند و از سایر جمعیت‌ها جدا می‌شوند، دارای الگوهای پروتئینی مشابهی نیز هستند. همچنین جمعیت‌های کانی گندی و چی چال دارای صفات ریخت‌شناسی و الگوهای پروتئینی مشابه هم و متفاوت از سایر جمعیت‌ها هستند. درحالی‌که جمعیت‌های کیاسر، آبشهر و چالوس با این که دارای صفات ریخت‌شناسی متفاوتی هستند اما دارای الگوهای پروتئینی مشابهی اند. بنابراین همانطور که از نتایج این تحقیق مشخص می شود، دست آوردهای مولکولی و ریخت شناسی 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، متاسفانه درختانی که ویژگی های زیرگونه *macrocarpa* را داشته باشند، یافت نشد. هر چند نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که الگوهای پروتئینی بذر قادر است تفاوت های عمیق جمعیت‌های مختلف لور را فارغ از موضوعاتی مانند اکوتیپ و یا اکوکلاین 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.

سپاسگزاری

از آقایان کمالی (مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان شمان شمالی) و پورنصرالله (مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان) که در جمع‌آوری نمونه‌های لور در استان‌های مختلف مساعدت کرده اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

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. (۱۳۸٤) 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): ۳۳۷-۳٤٤

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 Populous 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 cunninghmiana* 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). Charaterization 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.