مطالعه چندشکلی ایزوآنزیم‌های استراز، پراکسیداز و مالات دهیدروژناز در ارقام و گونه‌های پسته ایرانی

علی اعلمی[۱]، محمد تائب[۲]، عباس لطفی[۳] و یعقوب صادقیان مطهر[٤]

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ارقام و گونه‌های پسته ایرانی از سه آنزیم استراز، پراکسیداز و مالات دهیدروژناز در ۳۰ ژنوتیپ مختلف پسته استفاده شد. نمونه‌ها از برگ‌های تازه درختان پسته تهیه گردید. برای این منظور از بافر استخراج حاوی ۲۰ درصد ساکارز، ۰/۰۱ مولار دی‌تیوتری‌تول، دو درصد پلی‌اتیلن گلایکول و ۸ درصد پلی‌ونیل پلی‌پیرولیدن استفاده شد. برای جداسازی ایزوآنزیم‌ها تکنیک ایزوالکتریک فوکوسینگ با ژل پلی‌اکریل‌آمید با غلظت دو درصد وزنی حجمی آمفولیت به کار رفت.

نتایج چندشکلی زیادی را در هر سه سیستم آنزیمی نشان داد، که بیشترین آن مربوط به آنزیم استراز بود. تعداد ۱۹ باند در آنزیم استراز و ۲۸ باند برای آنزیم مالات دهیدروژناز دیده شد، که در دامنه گسترده‌ای از شیب pH پراکنده بودند. برای آنزیم پراکسیداز در یک دامنه باریک pH، ۱۱ باند مشاهده شد. نتایج حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، بر اساس سه سیستم آنزیمی مذکور، آنها را در ۸ گروه اصلی و ۲۰ گروه فرعی تقسیم نمود، به نحوی که میزان تشابه ژنتیکی از سمت ارقام رایج باغی به سمت گونه‌ها کاهش یافته، در نهایت گونه‌ها در سه گروه انتهایی قرار گرفتند. واریته سرخس به عنوان فرم وحشی گونه ورا، حد واسط ارقام رایج باغی با گونه‌های دیگر قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: *پسته، ایزوآنزیم، استراز، پراکسیداز، مالات دهیدروژناز، تنوع ژنتیکی*

۱. مربی اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲. پژوهشیار اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

۳. استادیار بیوشیمی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

٤. پژوهشیار اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، کرج

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.1.8.2]

مقدمه

پسته یکی از مهم‌ترین محصولات باغی کشور است که به دلیل ارزش غذایی زیاد و طعم و مزه دلپذیر، طرفداران زیادی در سراسر جهان دارد. در حال حاضر ایران اولین و بزرگ‌ترین تولید کننده و صادر کننده پسته در سطح جهان است. افزون بر این، ایران خاستگاه اصلی یا یکی از اصلی‌ترین خاستگاه‌های این گیاه در جهان است. باور گیاه‌شناسان بر این است که جنس پسته (*Pistacia* spp) در حدود ۳-٤ هزار سال قبل در ایران اهلی شده و سپس به دیگر نقاط جهان برده شده است. تاکنون در ایران سه گونه *P. khinjuk*، *P. vera* و *P. atlantica* شناخته شده است، که از تنوع ژنتیکی و فنوتیپی بسیار زیادی برخوردار می‌باشد. از سه گونه مذکور گونه *P. vera*، یا پسته اهلی، به عنوان مادر پسته‌های ایران و جهان دارای اهمیت و ارزش اقتصادی است (۱ و ۳).

ایزوآنزیم‌ها برخلاف نشانگرهای مورفولوژیک، بدون اثر نامطلوب اپیستازی و پلیوتروپی می‌باشند. از سوی دیگر، وجود خاصیت همبازی در توارث ایزوآنزیم‌ها امکان بررسی و تمایز ژنوتیپ‌های هتروزیگوت از هموزیگوت را در نسل‌های در حال تفرق امکان‌پذیر می‌سازد. وسایل و تجهیزات مورد نیاز برای مطالعه ایزوآنزیم‌ها نسبتاً ارزان و در دسترس است. هم‌چنین، امکان بررسی شمار زیادی نمونه در زمانی کوتاه وجود دارد. پیوستگی میان الگوی باندهای ایزوآنزیمی با صفات با اهمیت، به ویژه مکان‌های ژنی عامل صفات کمّی، این اجازه را به پژوهنده می‌دهد که گزینش را در مراحل اولیه و به دور از تأثیر عوامل محیطی، در سطح ژنوتیپ انجام دهد (٦، ۹، ۱۱ و ۱۹).

مهم‌ترین و گسترده‌ترین کاربرد ایزوآنزیم‌ها در عرصه پژوهش‌های ژنتیک گیاهی عمدتاً بررسی تنوع ژنتیکی، مطالعه کلکسیون‌های ژرم‌پلاسم و تعیین روابط خویشاوندی ارقام و گونه‌های جوامع مختلف گیاهی است. اوزانی و همکاران (۱۰) با استفاده از هفت سیستم آنزیمی، ٤۳ رقم و ۸۹ واریته وحشی زیتون را با منشأهای مختلف جغرافیایی بررسی کرده و روابط فیلوژنیک آنها را تعیین نمودند. تجزیه ژنتیکی ایزوآنزیم‌ها چندشکلی (Polymorphism) نسبتاً زیادی را نشان داد، که میزان آن در درختان وحشی نسبت به ارقام بومی بیشتر بود. افزون بر این، درختانی که به طور طبیعی از گرده‌افشانی درختان وحشی و ارقام بومی تولید شده بودند از تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به ارقام بومی برخوردار بودند.

استاکر و همکاران (۱۷) با بررسی تنوع ایزوآنزیم‌های بادام زمینی، تنوع ژنتیکی موجود در میان گونه‌های مختلف را تخمین زدند. هم‌چنین، پتانسیل استفاده از چندشکلی ایزوآنزیم‌ها، به عنوان نشانگر در تشخیص اینتررگرسیون در کلکسیون‌های ژرم‌پلاسم را بررسی نمودند. در این پژوهش مشخص شد، گونه تتراپلویید *Arachis hypogaea* ایزوآنزیم‌های با چندشکلی کمی دارد، در حالی که گونه‌های دیپلویید از تنوع زیادی برخوردار می‌باشند. اختلافات زیاد بین الگوهای ایزوآنزیمی در گونه‌های *A. hypogaea* و *A. batizoca* (مشکوک به عنوان بخشنده ژنوم B) نشان می‌دهد که این گونه نمی‌تواند به عنوان جد ارقام زراعی بادام زمینی در نظر گرفته شود. به طور کلی، شمار زیاد جایگاه‌های ژنی چندشکل می‌تواند به عنوان یک نشانگر ژنتیکی در آزمایش‌های تلاقی بین گونه‌ای مفید باشد. ضمناً، چندشکلی ایزوآنزیم‌ها از بذر به بذر در داخل نمونه‌های بانک ژن نشان داد که ژرم‌پلاسم بادام زمینی باید به صورت توده‌ای از بذور، شامل افراد یا والدین نگهداری شود.

پروتوپاپاداکیس و پاپانیکولا (۱۲) با جدا کردن ایزوآنزیم‌های چهار سیستم آنزیمی، تنوع ژنتیکی موجود در نمونه‌هایی از جنس لیمو، شامل لیمو شیرین، لیمو ترش ایرانی، لیمو عمانی و شماری واریته انتخابی از ارقام محلی را بررسی نمودند. نتیجه پژوهش گویای اختلافات آنزیمی آشکار بین نمونه‌ها بود، که می‌تواند در شناسایی، جداسازی و ثبت گونه‌ها، ارقام تجارتی و انتخابی به طور مؤثری استفاده گردد. آنزیم استراز (Esterase) نسبت به دیگر آنزیم‌های مورد استفاده از چندشکلی بیشتری برخوردار بود. بنابراین، به عنوان ابزار کارایی در شناسایی ارقام در جنس لیمو قابل توصیه است.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.1.8.2]

حق‌نظری (۲) با به کارگیری دو سیستم آنزیمی استراز و گلوتامات اکسالواستات ترانس‌آمیناز (Glutamate oksaloacetate transaminase) روابط فیلوژنتیکی ۲۰۰ ژنوتیپ مختلف جو را، که از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری شده بود، تعیین نمود. نتایج نشان داد، توده‌های بومی جو در ایران برای آنزیم استراز دارای چندشکلی زیاد می‌باشند، در حالی که برای آنزیم گلوتامات اکسالواستات ترانس‌آمیناز در هیچ یک از توده‌ها چندشکلی دیده نشد. نتایج گروه‌بندی نیز ۲٦ جمعیت از جوهای ایران را در ۹ گروه اصلی قرار داد، ولی رابطه منطقی بین فواصل جغرافیایی و فواصل ژنتیکی در میان توده به دست نیامد.

میردریکوند و همکاران (٤) با بررسی ایزوآنزیم‌های استراز، فسفوگلوکز ایزومراز (Glucose-6-phosphate isomerase) ، کاتالاز (Catalase)، شیکیمیت دهیدروژناز (Shikimate dehydrogenase) و آمینوپپتیداز (Aminopeptidase)، تنوع ژنتیکی ۱۲۰ توده از برنج‌های ایران را ارزیابی و بررسی نمودند. نتایج بررسی نشان داد که برنج‌های ایران از تنوع ژنتیکی بسیار زیادی برخوردارند، و در بیشتر مکان‌های ژنی ایزوآنزیمی با برنج‌های آسیایی تفاوت چشم‌گیری دارند، و بیشترین تنوع مربوط به ایزوآنزیم‌های آمینوپپتیداز و فسفوگلوکز ایزومراز بود. به طور کلی، نتیجه این پژوهش نشان داد که برنج‌های ایرانی دارای ساختار ژنتیکی خاص می‌باشند و تنوع در آنها بسیار زیاد است. این امر می‌تواند به دلیل تکامل مستقل این گیاه زراعی در زیست‌بوم نسبتاً منحصر به فرد ایران باشد، که سبب ایجاد تفاوت بسیار با زیست‌بوم اصلی این گیاه در آسیای جنوب شرقی، هند و چین شده است.

به رغم اهمیت پسته در کشور، تاکنون پژوهش کامل و جامعی از وضعیت ژرم‌پلاسم این گیاه صورت نگرفته است. از کشورهای دیگر نیز، بجز چند مورد که آن هم عمدتاً در سطح گونه و مربوط به همان کشور بوده است، گزارشی به چشم نمی‌خورد. در این پژوهش سعی شده با بررسی تنوع ایزوآنزیم‌ها، شناخت بهتری از وضعیت ژنتیکی و روابط فیلوژنی ارقام و گونه‌های موجود پسته در کشور به دست آید.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۳۰ ژنوتیپ مختلف پسته از کلکسیون مؤسسه تحقیقات پسته رفسنجان، شامل ۲٤ رقم رایج باغی (متعلق به گونه *P. vera*)، واریته سرخس (پسته خودرو و وحشی متعلق به گونه *P. vera*)، کسور (*P. khinjuk*)، بنه (*P. mutica*، زیرگونه *P. atlantica*)، بنه باغی (هیبرید طبیعی حاصل از تلاقی *P. mutica* و *P. vera*)، پسته اینتگریما (*P. integrima*) و پسته فلسطینا (*P. palestina*) بررسی و آزمایش گردید.

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مذکور از تکنیک ایزوالکتریک فوکوسینگ (Isoelectric focussing) و سه آنزیم استراز، پراکسیداز (Peroxidase) و مالات دهیدروژناز (Malate dehydrogenase) استفاده شد.

وجود ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی، به ویژه در درختان و گیاهان چند ساله، استخراج آنزیم را با دشواری رو به رو می‌سازد (۷ و ۸). برای رفع این مشکل، در گیاه پسته از بافر جدیدی که با تلفیق و تغییر در روش‌های آرولسکال و پارفیت (۵)، لیو و گیل (٦) و وندل و ویدن (۱۹) ساخته شد، استفاده گردید. بافر مذکور عبارت است از محلول ۲۰٪ ساکارز، ۰/۰۱ مولار دی‌تیوتری‌تول (Dithiotretol)، ۲٪ پلی‌اتیلن گلایکول ٤۰۰۰ (Polyethylenglycol–4000) و ۸٪ پلی‌ونیل پلی‌پیرولیدون (Polyvinylpolypyrollidone). مقدار ۰/۷۵ گرم از برگ‌های جوان، شاداب و تازه، همراه با ۰/۵ گرم پلی‌ونیل پلی‌پیرولیدون در هاون چینی ریخته شد، و با شش میلی‌لیتر بافر استخراج سرد مخلوط و کاملاً ساییده شد. سپس مخلوط فوق به مدت شش دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. کلیه مراحل مذکور در سردخانه و در دمای ۲-٤ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

برای الکتروفورز ایزوالکتریک فوکوسینگ از ژل پلی‌آکریل‌آمید با غلظت ۲٪ وزنی حجمی آمفولیت (Ampholyte) استفاده شد (۱۱، ۱٤ و ۱۵). آمفولیت‌ها شامل: فارمالیت (Pharmalyte) ۱۰-۳ برای استراز، فارمالیت ۵-۲/۵ و سروالیت (Servalyte) ٤-۲ برای پراکسیداز، و آمفولین‌های

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.1.8.2]

(Ampholine) ۵-۳، ۷-۵ و ۹-۷ برای مالات دهیدروژناز بودند. زمان فوکوس اولیه و نمونه‌گذاری در هر سیستم آنزیمی به ترتیب ٦٠٠ و ١٤٠٠ ولت ساعت (حاصل‌ضرب ولتاژ اعمال شده در زمان بر حسب ساعت) بود.

در رنگ‌آمیزی استراز از روش ولیگاز (۱۸) با اندکی تغییر استفاده شد. بدین منظور، بافر رنگ‌آمیزی ۰/۱ مولار استات سدیم (Acetate sodium) با pH=٦ تهیه شد. سپس ۱۰۰ میلی‌گرم آلفا-نفتیل استات (α-naphtel acetate) در پنج میلی‌لیتر استون، و همراه با ۱۰۰ میلی‌گرم فست بلو ار- ار سالت (Fast blue RR salt) در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر مذکور کاملاً حل شد. محلول نهایی روی ژل ریخته و صبر شد تا باندهای قهوه‌ای کاملاً آشکار شوند. برای ظهور مناسب باندها ۳۰ دقیقه کافی بود.

در رنگ‌آمیزی پراکسیداز از روش تغییر یافته وندل و ویدن (۱۹) استفاده شد. بافر رنگ‌آمیزی شامل ۱۰۰ میلی‌لیتر استات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH= ٤/٥، ۵۰ میلی‌گرم ۳- آمینو ۹- اتیل‌کربازول (3-Amino 9-ethylcarbazol) که در پنج میلی‌لیتر ان، ان، دی‌متیل فورمامید (N, N, Dimethyl formamide) کاملاً حل شده، و ۰/۱۵ میلی‌لیتر هیدروژن پراکساید (Hydrogen peroxide) می‌باشد. سپس ژل در محلول فوق کاملاً غوطه‌ور شد. پس از پنج دقیقه نخستین باندهای قرمز، و پس از ۱۵-۲۰ دقیقه باندها کاملاً آشکار شدند. رنگ‌آمیزی مالات دهیدروژناز بر اساس روش لیو وگیل (٦) انجام گرفت.

پس از رنگ‌آمیزی سه سیستم آنزیمی فوق، شمار کل باندها برای هر آنزیم و هر ژنوتیپ تعیین شد. سپس با دادن نمره یک (بودن باند) یا صفر (نبود باند) بر اساس روش جاکارد (Jaccard)، ضریب تشابه ژنوتیپ‌ها محاسبه گردید. گروه‌بندی به روش UPGMA (Unweighted pair group method analysis) و با کمک نرم‌افزار Genstat, 5.31 انجام شد (١٦).

نتایج و بحث

پس از رنگ‌آمیزی اختصاصی آنزیم استراز، ۱۹ باند برای ژنوتیپ‌ها دیده شد، که در سه ناحیه ژل پراکنده بودند. با توجه به فرمول آمفولیت مصرفی برای تهیه ژل استراز، شیب pH از ۳ آغاز شده و به ۱۰ ختم می‌شود، در ناحیه اسیدی چهار باند با تنوع نسبتاً کم، در ناحیه خنثی ۱۱ باند با تنوع زیاد، و در ناحیه قلیایی چهار باند با تنوع نسبتاً کم مشخص گردید. سه باند تک‌شکل (Monomorph) نیز در ارقام مشاهده شد. بیشترین تعداد باند مربوط به رقم کله قوچی با ۱۷ باند و کمترین تعداد، پنج باند مربوط به گونه فلسطینا بود.

جداسازی ایزوآنزیم‌های پراکسیداز در ژل‌های با شیب pH ۲-۵ صورت گرفت. بیشترین جداسازی در ناحیه بسیار باریکی از شیب pH بود، که در این ناحیه ۱۱ باند از یکدیگر جدا شد، که یکی از آنها در ارقام بدون چندشکلی بود. ارقام کله قوچی و بادامی راور با هشت باند و لاهیجانی تنها با دو باند حداکثر و حداقل باندها را به خود اختصاص دادند.

در آنزیم مالات دهیدروژناز ۲۸ باند در محدوده pH ۳ تا ۹ دیده شد. باندها در طول ژل به صورت یک‌نواخت پراکنده بودند، که بیشتر آنها تک‌شکل و ناواضح بودند.

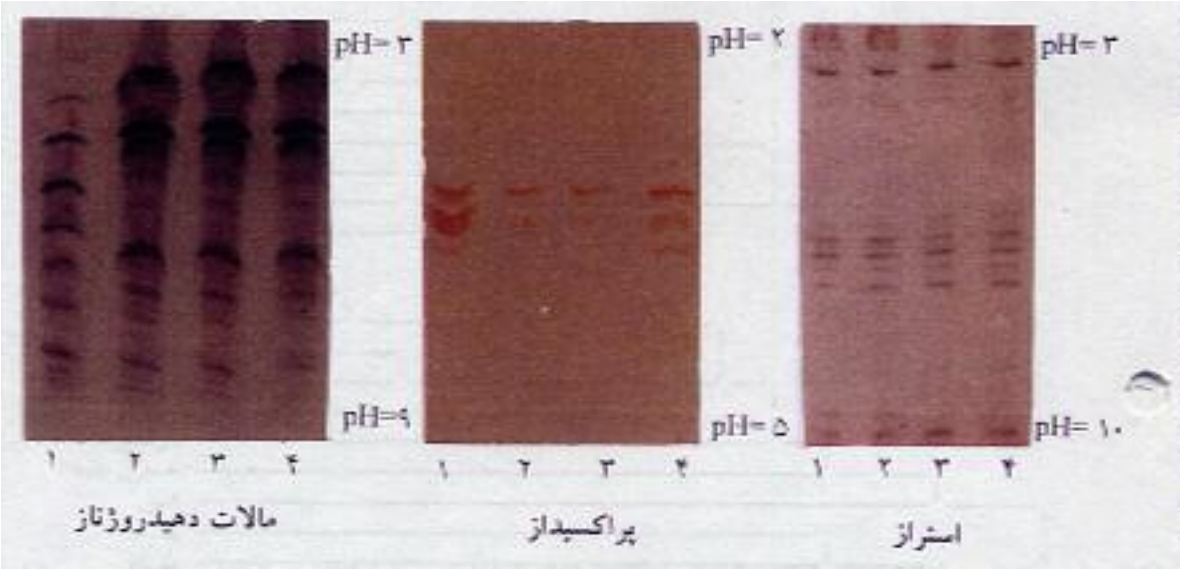
نمونه‌ای از جداسازی ایزوآنزیم‌های استراز، پراکسیداز و مالات دهیدروژناز برای برخی از ژنوتیپ‌های پسته در شکل ۱ آمده است.

بررسی تنوع ایزوآنزیم‌ها در سه سیستم آنزیمی استراز، پراکسیداز و مالات دهیدروژناز چندشکلی زیادی را برای تمام ارقام و گونه‌ها نشان داد. این نتیجه با نتایج ریشینگر (۱۳) و شیبانی (۳)، مبنی بر وجود تنوع زیاد در ارقام و گونه‌های پسته در ایران هماهنگی دارد. مقایسه تنوع سه آنزیم مذکور نشان داد که ایزوآنزیم‌های استراز نسبت به دو سیستم دیگر از تنوع بیشتری برخوردارند. پروتوپاپاداکیس و پاپانیکولا (۱۲) به کارایی آنزیم استراز در جداسازی و شناسایی ارقام جنس لیمو، به دلیل وجود چندشکلی نسبتاً زیاد در مکان‌های ژنی، اشاره کرده‌اند. حق‌نظری (۲) بر اساس تنوع ایزوآنزیم‌های استراز، توده‌های بومی جو ایران را بررسی و گروه‌بندی کرد.

گروه‌بندی بر اساس ضرایب تشابه، ۳۰ ژنوتیپ پسته را در

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.1.8.2]

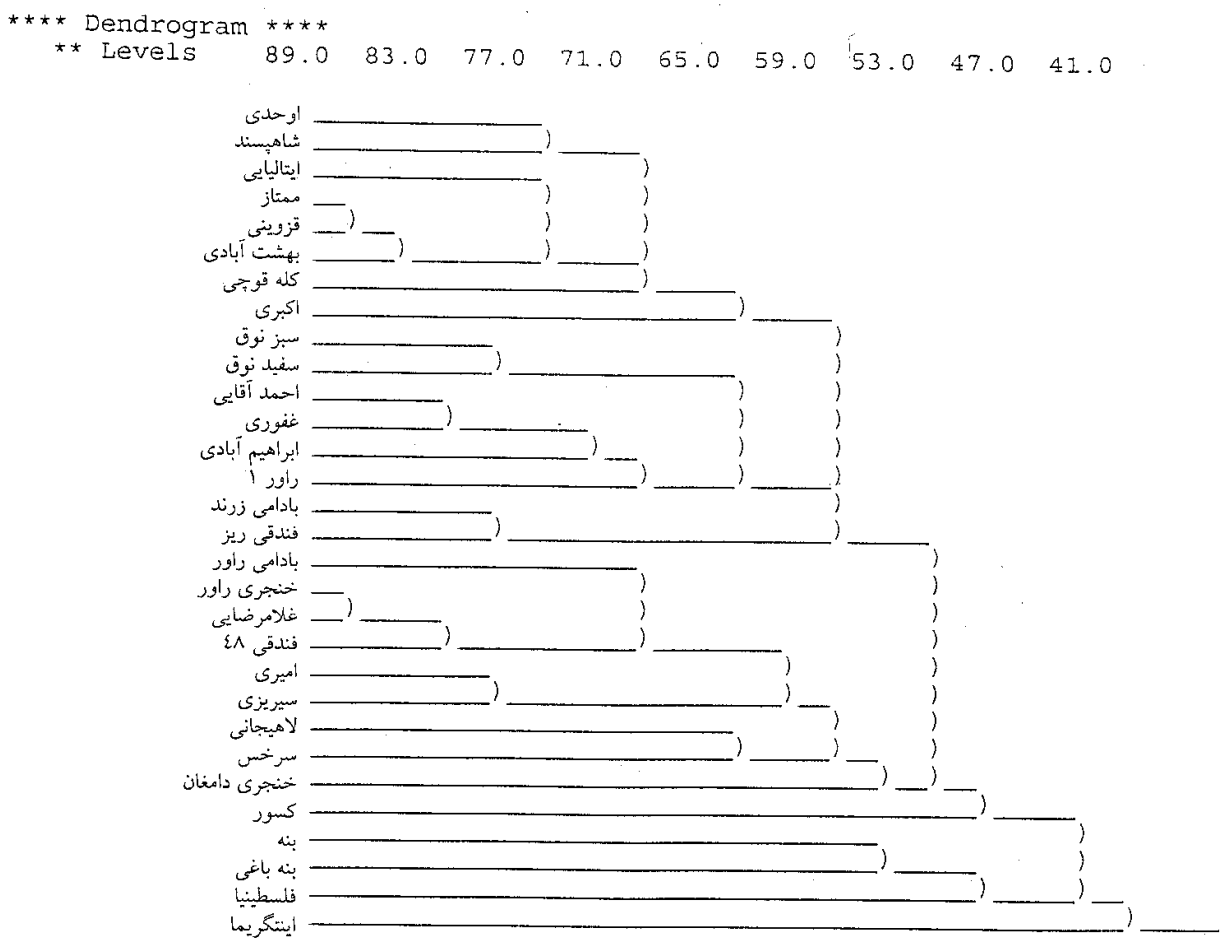


شکل ۱. نمونه‌ای از جداسازی ایزوآنزیم‌های استراز، پراکسیداز و مالات دهیدروژناز در برخی از ژنوتیپ‌های پسته

استراز: ۱. فندقی ٤٨ ۲. ابراهیم‌آبادی ۳. سبز نوق ٤. سفید نوق

پراکسیداز: ۱. کله قوچی ۲. لاهیجانی ۳. بادامی راور

مالات دهیدروژناز: ۱. اینتگریما ۲. کله قوچی ۳. شاه‌پسند ٤. ممتاز



شکل ۲. دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ارقام و گونه‌های پسته

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.1.8.2]

۸ گروه اصلی و ۲۰ گروه فرعی طبقه‌بندی نمود (شکل ۲). بدیهی است از سمت ارقام رایج باغی به سمت گونه‌ها، مقدار شباهت‌ها کاهش می‌یابد، که این موضوع کاملاً در شکل ۲ مشهود است، به طوری که پنج گروه آغازین دندروگرام به ارقام اختصاص یافته و سه گروه پایانی گونه‌ها را شامل می‌شود. ارقام ممتاز با قزوینی و خنجری راور با غلامرضایی بیشترین شباهت ژنتیکی را دارند. دو رقم کله قوچی و اکبری، که هر دو از ارقام مهم و با کیفیت هستند، در یک گروه جداگانه قرار گرفتند. شیبانی (۳) نیز به وجود ویژگی‌های مشابهی همچون زمان رسیدگی، درصد پوکی و شکل دانه (فندقی) در این دو رقم اشاره نموده است.

بر اساس شواهد تاریخی، گیاه‌شناسان مبدأ پسته‌های رایج باغی را درختچه‌های خودرو می‌دانند، که در شمال شرقی ایران، به ویژه منطقه سرخس، آسیای میانه و قفقاز می‌روییده‌اند و به تدریج در اثر انتخاب و انتقال به مناطق دیگر و توجه باغداران ایرانی اهلی شده، باعث ایجاد پسته‌های امروزی شده‌اند (۱ و ۳). با توجه به موقعیت پسته سرخس در میان ارقام و گونه‌ها (شکل ۲)، آشکارا دیده می‌شود که این ژنوتیپ در حد فاصل ارقام رایج باغی با دیگر گونه‌ها قرار دارد، و این احتمال که ارقام موجود در اثر اهلی شدن واریته سرخس ایجاد شده باشند بسیار زیاد است. حتی برخی ارقام مانند لاهیجانی با سرخس در یک گروه فرعی قرار گرفته‌اند. ارقامی که در طی سالیان دراز توسط باغبانان در اثر انتخاب ایجاد شده‌اند، همچون کله قوچی، اکبری، اوحدی و شاه‌پسند، امروزه به عنوان ارقام تجارتی مهم شناخته می‌شوند. این ارقام که در اثر فشار گزینش ماهیت وراثتی آنها بیشتر دستخوش تغییر و تحول شده، انتظار می‌رود شباهت ژنتیکی کمتری با گیاه مبدأ خود، یعنی سرخس داشته باشند. بررسی گروه‌ها در شکل ۲ نیز این مطلب را تأیید می‌کند.

از ۲٤ رقم مورد بررسی، تنها رقم خنجری دامغان بود که پس از واریته سرخس کمترین شباهت را با ارقام دیگر داشت. پژوهش‌های گیاه‌شناسان نشان می‌دهد که کشت پسته در منطقه دامغان نیز از سابقه طولانی برخوردار است (۱). بر این پایه، تفاوت این رقم با دیگر ارقام می‌تواند به دلیل نقش آثار محیطی، و در نتیجه انتخاب طبیعی در روند شکل‌گیری تکاملی این گیاه در طی سالیان زیاد باشد. میردریکوند و همکاران (٤) به تأثیر عوامل محیطی در تکامل، و در نتیجه تفاوت چشم‌گیر ساختار ژنتیکی برنج‌های ایرانی با برنج‌های آسیای جنوب شرقی اشاره داشته‌اند.

پسته کسور (*P. khinjuk*) در یک گروه جداگانه، و در حد فاصل ارقام متعلق به گونه *P. vera* با گونه‌های دیگر قرار گرفت. با مراجعه به فلور ایران و نگاه اجمالی به پراکنش جغرافیایی کسور، نزدیکی بیشتری بین این گونه با گونه *P. vera*، به ویژه پسته سرخس که فرم وحشی این گونه است، مشاهده می‌شود (۱۳). نتایج گروه‌بندی نیز چنین نزدیکی را نشان می‌دهد.

بنه (*P. mutica*) زیرگونه *P. atlantica* است، که در فلور ایران به چشم می‌خورد، و از لحاظ پراکندگی، شمال غرب، مرکز، شمال شرق و جنوب، یعنی محدوده وسیعی از کشور را شامل می‌شود (۳ و ۱۳). این گیاه نسبت به کسور از لحاظ صفات ظاهری، به خصوص شکل دانه، شباهت کمتری با ارقام دارد که در شکل ۲ نیز چنین فاصله‌ای دیده می‌شود. ضمناً، این زیرگونه، و ژنوتیپ دیگری با عنوان بنه باغی در یک گروه فرعی قرار گرفت. با توجه به این که بنه باغی به طور طبیعی از تلاقی دو گونه *P. vera* و *P. mutica* تولید شده است، و نتایج گروه‌بندی نیز این ژنوتیپ را با بنه در یک گروه قرار داده است، نحوه تلاقی را می‌توان به صورت اینتررگرسیون، با انتقال بخشی از ژرم‌پلاسم گونه *P. vera* به *P. mutica* در نظر گرفت، که در اثر تلاقی دو گونه مذکور و سپس تداوم تلاقی نتاج حاصل با بنه در طی چندین نسل صورت گرفته است. اوزانی و همکاران (۱۰) با استفاده از ایزوآنزیم‌ها، شناسایی والدین احتمالی درختانی را که به طور طبیعی از گرده‌افشانی گونهٔ دیگر به دست آمده‌اند، بررسی نمودند. استاکر و همکاران (۱۷) کارایی مناسب استفاده از ایزوآنزیم‌ها را در تعیین اینتررگرسیون، در ژرم‌پلاسم بادام زمینی بیان نمودند.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.1.8.2]

بدیهی است گونه فلسطینا و اینتگریما، که هر دو از گونه‌های خارجی و غیر بومی ایران هستند، باید حداکثر فاصله ژنتیکی را با ارقام و گونه‌های ایرانی داشته باشند.این وضعیت در شکل ۲ به روشنی دیده می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱. ابریشمی، م. ح. ۱۳۷۳. *پسته ایران، شناخت تاریخی*. مرکز نشر دانشگاهی، چاپ اول.

۲. حق‌نظری، ع. ۱۳۷۳. مطالعه پلی‌مورفیسم ایزوآنزیم‌های استراز و گلوتامات اکسالات ترانس‌آمیناز در توده‌های بومی جو ایرانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۳. شیبانی، ا. ۱۳٦٦. تنوع ژنتیکی و شناسایی گونه‌های پسته. خلاصه مقالات اولین سمینار ملی‌ذخایر توارثی‌گیاهی ایران. مؤسسه اصلاح و تهیه بذر و نهال، کرج.

٤. میردریکوند، م.، ق. ع. نعمت‌زاده، ب. قره‌یاضی و ع. اعلمی. ۱۳۷۹. بررسی فراوانی آللی و تنوع نشانگرهای ایزوزایم در برنج‌های ایرانی. مجموعه خلاصه مقالات ششمین کنگره علوم زراعت و اصلاح‌نباتات، دانشگاه مازندران، بابلسر.

5. Arulsekal, S. and D. E. Parfitt. 1986. Isozyme analysis procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio and fig. Hort. Sci. 21(4): 928-933.

6. Liu, C. J. and M. D. Gale. 1989. The chromosomal location of a third set of malate dehydrogenase loci, Mdh-3, in wheat, barley and related species. Theor. Appl. Genet. 78: 349-352.

7. Loomis, W. D. 1969. Removal of phenolic compounds during the isolation of plant enzymes. Methods Enzymol. 13: 150-152.

8. Loomis, W. D. 1974. Overcoming problems of phenolics and quinones in the isolation of plant enzymes and organelles. Methods Enzymol. 31: 528-544.

9. Moore, G. A. and B. Collins. 1983. New challenges confronting plant breeding. PP. 25-58. *In*: S. D. Tanksley and T. J. Orton (Eds.), Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Elsevier Scientific Publ., B.V., Amsterdam.

10. Ouazzani, N., R. Lumaret, P. Villemar and F. Digiusto. 1993. Leaf allozyme variation in cultivated and wild olive trees. Heredity 84: 34-42.

11. Petchey, E. M., R. M. D. Koebner and M. D. Gale. 1990. Genetic characterisation of a further homoallelic series of grain esterase loci, Est-6 in wheat. Theor. Appl. Genet. 79: 294-296.

12. Protopapadakis, E. and X. Papanikolaou. 1999. Use of four isozymatic systems in lemon and lemon-like citrus cultivars to detect their genetic diversity. J. Hort. Sci. Biotechnol. 74: 26-29.

13. Rechinger, K. H. 1969. Pistacia. *In*: Flora Iranica No. 63: 3–9, Akad. Druck., Univ. Velagsanstalt, Graz.

14. Righetti, P. G. 1989. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology, isoelectric focussing. Elsevier Biomedial Press, Amsterdam.

15. Righetti, P. G. 1990. Isoelectric focussing. PP. 149-216. *In*: D. Richwood and B. D. Hames (Eds.), Gel Electrophoresis of Proteins. IRL Press at Oxford University Press, New York.

16. Romesburg, C. H. 1990. Cluster Analysis for Researchers. Robert E. Krieger Publ. Co., Malabar, Florida.

17. Stalker, H. T., T. D. Phillips, J. P. Murphy and T. M. Jones. 1994. Variation of isozyme patterns among Arachis species. Theor. Appl. Genet. 87: 746-755.

18. Vallegos, E. C. 1983. Enzyme activity staining. PP. 469-516. *In*: S. D. Tanksley and T. J. Orton (Eds.), Isozymes in Plant Genetics and Breeding. Elsevier Scientific Publ., B. V., Amsterdam.

19. Wendel, J. F. and F. N. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. PP. 5-40. *In*: D. E. Soltis and P. S. Soltis (Eds.), Isozymes in Plant Biology. Dioscorides Press, Portland, Oregon, USA.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-05-09]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.1.8.2]