بررسی میزان و تنوع پروتئین در بذر ده رقم کنجد (*Sesamum indicum* L.)

محمدرضا دینی ترکمانی و ژیرایر کاراپتیان[۱]

چکیده

به منظور بررسی خصوصیات کمّی و کیفی پروتئین در ارقام مختلف کنجد، ده رقم کنجد مورد مطالعه قرار گرفت. مطالعه کمّی با استفاده از روش کجلدال و کیفی با استفاده از الکتروفورز انجام شد. ارقام شامل اولتان، زودرس، یکتا، هندی، ورامین، چینی، کرج ۱، محلی مغان، نازک تک شاخه و نازک چند شاخه بود. نتایج تجزیه واریانس صفت مورد مطالعه نشان داد که میانگین پروتئین ارقام ۲۴/۰۲ درصد بوده و بین میزان پروتئین آنها اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۱ وجود دارد. پروفیل پروتئین‌های ذخیره بذر کنجد با ده باند پلی پپتیدی و حرکت نسبی ۰/۹۴۱ > Rm > ۰/۲ درسطح ژل مشخص گردید. باندها از شدت رنگ‌های متفاوت برخوردار بودند و از نظر پروتئین سه مکان ژنی درسطح ژل آشکار بود. این سه مکان در همه ارقام حالت مونومورف داشته و ارقام از نظر پروفیل پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه هیچ تنوعی را نشان ندادند. لذا مطالعه کیفی پروتئین ارقام توسط الکتروفورز نشان می‌دهد این صفت از ارزش کاربردی لازم در به نژادی ارقام برخوردار نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کنجد، صفات کمّی و کیفی، الکتروفورز، میزان پروتئین

مقدمه

کنجد گیاه یکساله خود گشن از خانواده پدالیاسه (Pedaliaceae) با نام علمی *Sesamum indicum* L. است . این گیاه یکی ازگیاهان دیرینه زراعی می‌باشد، که به علت دارا بودن درصد زیاد روغن ازجمله دانه‌های روغنی و به عنوان یک منبع تغذیه‌ای محسوب می‌گردد. کیفیت روغن کنجد بالا بوده و از میزان پروتئین مناسبی برخوردار می‌باشد (۷).

بیشترین بخش کاربردی کنجد، دانه آن است که نزدیک به ۷۵٪ آن از چربی و پروتئین تشکیل یافته است (۳). روغن کنجد از روغن‌های نیمه خشک و دارای بیشترین مرغوبیت می‌باشد. به موجب کیفیت عالی روغن آن که دارای بوی مطبوع و مزه خوبی است، این بذر را ملکه دانه‌های روغنی نامیده‌اند (۷). در ایران نیز برای آن ارزش غذایی زیادی قائل بوده و از قدیم آن را «روغن پهلوانی » نام گذاری کرده‌اند (۵). علاوه برآن، ریشه و برگ‌های کنجد نیز مصارف دارویی و آشپزی دارد. به عنوان مثال عصارهٔ ریشه آن به روش‌های مختلف در بهبود آسم و

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.18.8]

سرفه به کار می‌رود و برگ‌های آن به صورت سبزی مصرف می‌گردد (۹). تولید کنندگان عمده این محصول در دنیا چهار کشور هند، چین، برمه و سودان می‌باشند. در برخی مطالعات روش دسته بندی خوشه‌ای (Clustering) به جهت سودمندی آنها در روشن نمودن دسته بندی ژنوتیپ‌ها استفاده شده است (۱۳). در گیاهان خودگشن با کمک این تکنیک والدین را برای دو رگ گیری به نحوی انتخاب می‌نمایند که باعث ازدیاد عملکرد در نتاج آنها بشود، زیرا هرچه والدین از هم دورتر باشند، تا حدی که هموله‌وژی کروموزومی و ژنتیکی خود را حفظ کنند، هیبرید آنها دارای هتروزیس بیشتری خواهد بود (۶). از طرفی به نژادگر بدین طریق می‌تواند مقاومت‌ها و صفات مطلوب را از منابع مختلف یک جا جمع نماید و پایه ژنتیکی ارقام حاصل از نتاج آنها را قوی نموده و زمینه آسیب پذیری ژنتیکی را نیز کاهش دهد (۱). درآزمایشی، پروتئین α- گلوبولین موجود در بذر کنجد (که وزن مولکولی بالایی دارد) با دترجنت‌های کاتیونی متراکم، تجزیه و جدا گردید (۱۲). در مطالعات انجام گرفته توسط وزارت کشاورزی آمریکا میزان پروتئین بذر کنجد در آن کشور ۲۵-۱۹ درصد گزارش شده است (۷). هم‌چنین گروهی از محققان کره‌ای میزان پروتئین واریته جدیدی به نام Hanseomgga را که از تلاقی دو واریته مختلف تولید کرده بودند، ۲۲/۳ درصد گزارش نمودند (۱۱). در آزمایشی با کشت بافت گیاه کنجد مبنی بر اثر خشکی بر میزان پروتئین کل و پرولین آزاد که توسط یحیی شریفی انجام گرفته نشان داده شد، مقدار پروتئین کل در کالوس‌های رشد یافته در تاریکی و روشنایی با افزایش خشکی محیط کشت، بالا رفته است. تأثیر خشکی بر تغییرات مقدار پروتئین کل کالوس‌ها از جنبه‌های تنشی نشان می‌دهد که تغییرات خشکی در متابولیسم این مواد موثر است. ولی در رابطه با تغییرات مقدار پرولین آزاد از نظر بیوسنتز پرولین و در رابطه با بیان ژن‌های آن قابل بررسی می‌باشد (۲). هدف از این مطالعه بررسی کمّی و کیفی پروتئین بذر ارقام کنجد جهت تعیین قرابت آنها با یکدیگر بوده تا با انتخاب پایه‌های مناسب در برنامه‌های به نژادی این گیاه با ارزش گام موثری برداشته شود.

مواد و روش‌ها

بذرهای ده رقم کنجد شامل اولتان، زودرس، یکتا، هندی، ورامین، چینی، کرج ۱، محلی مغان، نازک تک شاخه ونازک چند شاخه در سال ۱۳۸۳ از مؤسسه اصلاح بذر و تهیه نهال کرج دریافت شد. از ارقام به روش مشروح زیر عصاره گیری شده و سنجش پروتئین کل در تمام ارقام با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. مطالعه کیفی پروتئین با استفاده از الکتروفورز عمودی، روش پلی اکریل آمید ژل الکتروفورز (PAGE) انجام شد (۱۰). در این بررسی ابتدا ۰/۳گرم از هر نمونه جداگانه خرد و با ۳ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری ($Na_2EDAT = 0.46g$, $Tris = 0.54g$, $Boric\ acid = 0.27g$) در لوله آزمایش مخلوط گردید. برای جلوگیری از اکسیداسیون پروتئین، به هریک ازلوله‌ها ۰/۲گرم اسیداسکوربیک و۰/۲گرم پلی وینیل پیرولیدین اضافه شد. سر انجام جهت شکستن باندهای دی سولفید پروتئین به هر کدام ۳ میکرولیتر ۲- مرکاپتواتانول اضافه گردید. سپس نمونه در دمای $4^{\circ}C+$ به مدت ۲۴ساعت در یخچال نگه‌داری و بعد به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. از قسمت رویی و شفاف عصاره به میزان ۲۵ µL جهت انجام الکتروفورز در محل چاهک‌ها ریخته شد (۴). در ابتدای کار ولتاژ ۵۰v و پس ازچند دقیقه از ولتاژ ۲۰۰v درسیرکولاسیون آب $4^{\circ}C+$ به مدت ۴ ساعت استفاده شد. جهت مشخص شدن وزن مولکولی تقریبی پلی پپتیدها، از پروتئین استاندارد استفاده گردید، که مشخصات آنها در جدول ۱ ذکر شده است. بعد از انجام الکتروفورز جهت ظاهر سازی پروتئین‌ها به ترتیب مراحل تثبیت، رنگ آمیزی و رنگ زدایی به عمل آمده و بعد عکس و گراف‌ها از باندهای تشکیل شده تهیه و مورد مطالعه قرار گرفت.

در سنجش پروتئین کل با روش کجلدال، مدل *Gerhardt* با

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.18.8]

جدول ۱. لیست پروتئین‌های استاندارد و مشخصات الکتروفورزی آنها

نام پروتئین	وزن مولکولی (KD)	Rm
بتا گالاکتوزیداز	۱۱۶	۰/۲۱۷
فسفوریلاز B	۹۷	۰/۲۶۹
اووترانسفرین	۷۸	۰/۴۲۳
گلوتامات دهیدروژناز	۵۶	۰/۵۶۴
اووآلبومین	۴۲	۰/۶۶۶

۸ لوله پخت (۷ لوله نمونه + ۱ لوله تست شاهد) صورت گرفت. هر لوله پخت شامل: ۱ گرم نمونه، ۵ گرم از مخلوط سولفات‌ها (سولفات مس ۳/۵ گرم + سولفات پتاسیم۰/۹۶گرم + اکسید سلنیوم ۰/۵ گرم) + ۲۰cc اسید سولفوریک غلیظ بود. برای عملیات پخت، دستگاه ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵۰°C تنظیم و ثابت مانده و بعد در دمای ۴۵۰°C که شروع پخت است قرار داده شد. مدت زمان لازم برای رسیدن به این دما ۹۰ دقیقه می‌باشد. بعد از طی ۱/۵ساعت لوله محتوی نمونه به ترتیب شماره ۸-۱ برداشته شده، ۲۰cc آب مقطر به هر لوله اضافه گردیده و در قسمت تقطیر، در جایگاه مخصوص لوله‌ها قرار داده شد. هم‌زمان در جایگاه ارلن، ارلن‌های حاوی اسید بوریک ۲٪ و حاوی ۷- ۵ قطره محلول تاشیرو (۰/۸۸گرم متیل رد + ۰/۱۶گرم بروموکروزول + ۱۰۰cc اتانول) قرار گرفت. بعد از تغییر رنگ محلول از بنفش کم رنگ به سبز کم رنگ، تیتراسیون با اسید سولفوریک ۰/۱*N* انجام شد.

با عمل تیتراسیون مصرفی ، میزان ازت نمونه با فرمول زیر محاسبه گردید :

$$\text{درصد ازت} = \frac{\text{عدد حاصل از تیتراسیون (cc)} \times ۰/۰۰۱۴}{\text{وزن نمونه(گرم)}} \times ۱۰۰$$

بعداز تخمین مقدار ازت درصد پروتئین با فرمول تعریف شده برای کنجد (۵) به شرح زیر محاسبه شد.

درصد پروتئین = میزان ازت × ۵/۳

در مطالعه حاضر بر اساس میانگین پروتئین کل دانه در ارقام و به روش تجزیه خوشه‌ای (UPGMA) به وسیله برنامه کامپیوتری SPSS دندروگرام ارقام مورد مطالعه رسم گردید.

نتایج

نتایج حاصل ازآنالیز واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین میزان پروتئین ارقام در سطح احتمال ۰/۰۱ وجود دارد، که نشان می‌دهد ارقام از نظر میزان پروتئین دانه با یکدیگر متفاوتند. مقدار ضریب تغییرات (cv) بیانگر دقت نسبتاً مناسب در اجرای آزمایش است. هم‌چنین میانگین کل پروتئین ارقام ۲۴/۰۲ درصد می‌باشد. مقایسه میانگین پروتئین‌ها با آزمون دانکن (جدول ۳) نشان می‌دهد که دامنه تغییرات پروتئین از ۱۷/۳۹ تا ۲۸/۲۱ درصد بوده که این اعداد به ترتیب به ارقام هندی و زودرس اختصاص دارد. نتایج حاصل ازتجزیه خوشه‌ای ارقام را در سه کلاستر دسته بندی نمود (شکل ۱) :

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.18.8]

جدول ۲. تجزیه واریانس مقایسه میزان پروتئین موجود در بذر ارقام کنجد

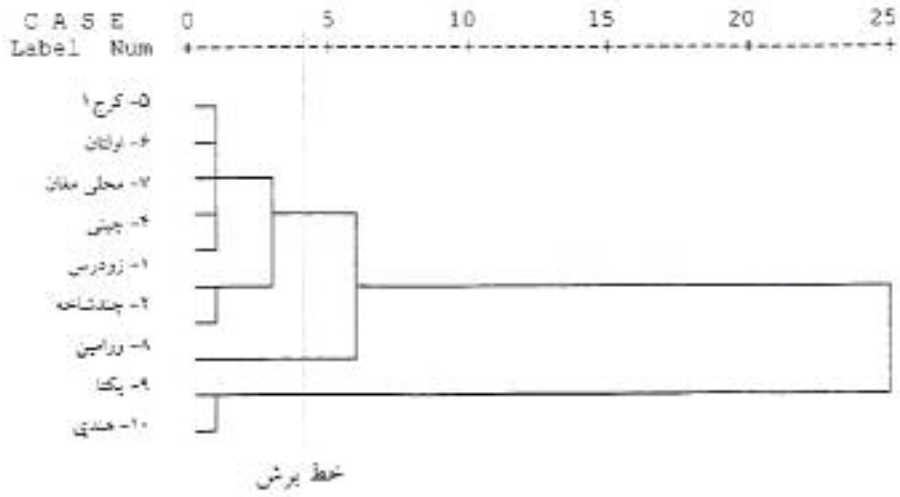
منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F محاسبه شده	P
تیمار	۹	۳۹۲/۴۳۵	۴۳/۶۰۴	۹۵/۵۶۳	۰/۰۰۰
خطا	۲۰	۹/۱۲۶	۰/۴۵۶		
کل	۲۹	۴۰۱/۵۶۱			

C.V. = 8.798

جدول ۳. ارزیابی و مقایسه مقدار درصد پروتئین کل در بذر ارقام کنجد

ردیف	ارقام	تکرار			میانگین ± SE	گروه
		۱	۲	۳		
۱	زودرس	۲۸/۱۸	۲۸/۰۹	۲۸/۳۵	۲۸/۲۱ ± ۰/۰۸	A
۲	نازک چند شاخه	۲۶/۷۸	۲۸/۷۹	۲۷/۳۹	۲۷/۶۵ ± ۰/۵۹	A
۳	محلی مغان	۲۵/۵۱	۲۵/۲۹	۲۶/۷۳	۲۵/۸۴ ± ۰/۴۵	AB
۴	چینی	۲۵/۹۹	۲۶/۰۸	۲۵/۲۹	۲۵/۷۹ ± ۰/۲۵	AB
۵	کرج۱	۲۵/۳۸	۲۴/۹۹	۲۵/۵۵	۲۵/۳۱ ± ۰/۱۶	AB
۶	اولتان	۲۵/۸۱	۲۴/۵۹	۲۵/۴۶	۲۵/۲۹ ± ۰/۳۶	AB
۷	نازک تک شاخه	۲۴/۷۶	۲۴/۹۴	۲۵/۰۳	۲۴/۹۱ ± ۰/۰۸	AB
۸	ورامین	۲۲/۰۵	۲۰/۹۱	۲۳/۸۱	۲۲/۲۶ ± ۰/۸۴	B
۹	یکتا	۱۷/۶۸	۱۷/۳۳	۱۷/۵۰	۱۷/۵۰ ± ۰/۱۰	C
۱۰	هندی	۱۷/۵۹	۱۷/۳۳	۱۷/۲۴	۱۷/۳۹ ± ۰/۱۰	C

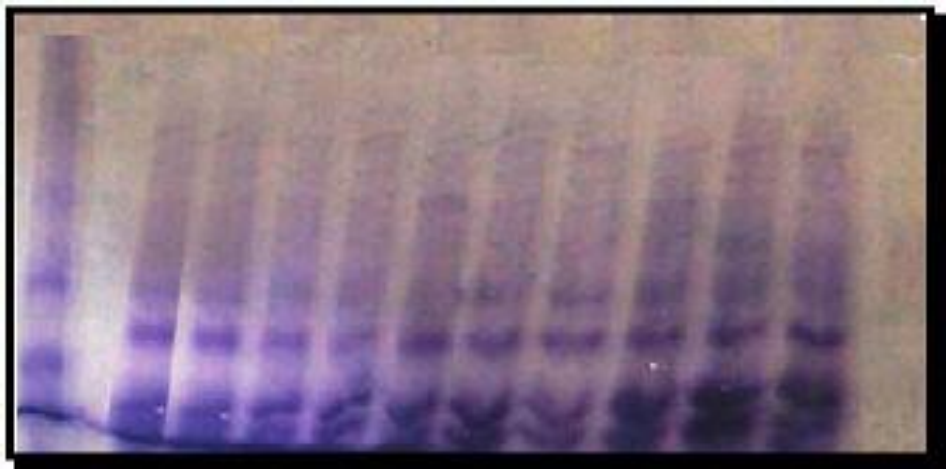
حروف غیر مشابه نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۱. دندروگرام بر اساس میانگین پروتئین کل

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.18.8]



شکل ۲. مقایسه باندهای پلی پپتیدی ارقام کنجد.شمارهٔ ارقام بر حسب جدول ۳ می‌باشد.

۱- گروه اول: زودرس، نازک چند شاخه، محلی مغان، چینی، کرج ۱، اولتان، نازک تک شاخه

۲- گروه دوم: ورامین

۳- گروه سوم: یکتا، هندی

طی عمل الکتروفورز (شکل ۲) پروتئین‌های ذخیره بذر، ۱۰ باند پلی پپتیدی با حرکت نسبی ۰/۹۴ > Rm > ۰/۲ در محدوده وزن مولکولی KD ۱۱۶- ۲۵ در سه منطقه مشخص و به صورت مونومورف به تصویر کشیده شد. باندها از شدت رنگ‌های مختلف برخوردار بودند. ضخیم‌تر بودن باندها نشانه بیشتر بودن مقدار کمّی رشته‌های پپتیدی در محل آنها است.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه خوشه ای پروتئین کل دانه (شکل ۱) ارقام در سه کلاستر دسته بندی می‌شوند. همان طور که ذکر شد هدف عمده استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای در به نژادی گیاهان زراعی، دسته بندی ژنوتیپ‌ها و نمونه‌هایی است که باهم بیشترین فاصله را دارند تا با استفاده از آنها در برنامه تلاقی بتوان حداکثر تنوع ژنتیکی را تولید کرد (۱۳). از لحاظ کمی، هر چه والدین از یکدیگر دورتر باشند تنوع بیشتری در نتاج حاصل از آنها ایجاد خواهد شد. لذا جهت یک برنامه اصلاحی دو رگ گیری دو گروهی که بیشترین فاصله را از هم دارند در برنامه تلاقی به عنوان والدین انتخاب می‌گردند. براساس همین موضوع در مطالعه حاضر مشخص شد که دو رقم هندی و یکتا از نظر میزان پروتئین با بقیه ارقام اختلاف معنی داری داشته و ارقام با رسم دندروگرام درسه کلاستر جداگانه قرار گرفتند. در حقیقت از نظر میزان پروتئین این سه گروه از هم فاصله بیشتری دارند، لذا در برنامه تلاقی می‌توان ازمیان این سه گروه متفاوت دو گروه را انتخاب کرده و یک رقم از هرکدام را به عنوان والدین باهم تلاقی داد تا احتمالاً بدین طریق نتیجه‌ای مطلوب به دست آورد.

هم‌چنین از مطالعه انجام شده مشخص می‌شود که باندهای پلی پپتیدی تشکیل شده درسطح ژل از همدیگر قابل تفکیک نیستند. این ارقام از نظر تنوع ژنتیکی سه مکان ژنی در سطح ژل داشته و این مکان‌ها در همهٔ ارقام حالت مونومورف داشت. بنابراین ارقام از نظر پروفیل پروتئین‌های ذخیره ای دانه هیچ تنوعی را نشان ندادند. علت آن احتمالاً به نوع گرده افشانی در این گیاه مرتبط می‌باشد، (خودگرده افشانی) که مانع ایجاد نوترکیبی و تولید گیاهانی با صفات ژنتیکی متنوع می‌گردد (۷). بنابراین مطالعه کیفی پروتئین ارقام توسط الکتروفورز نشان می‌دهد این صفت از ارزش کاربردی لازم در به نژادی ارقام کنجد

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.18.8]

برخوردار نمی‌باشد. این نتیجه با بررسی تنوع ژنتیکی برخی ارقام سویا که گیاهی خود گرده افشان است مشابه می باشد (۶). اما در کتان با وجود اتوگامی، ۳۰ درصد دگرگرده افشانی دراین گیاه انجام می‌گیرد که این خود موجب تنوع ژنتیکی قابل توجهی از نظر نوع پروتئین در این گیاه شده است (۸).

سپاسگزاری

از کلیه افراد محترم به خصوص آقای مبادر ثانی کارشناس محترم آزمایشگاه ژنتیک دانشکده علوم و هم‌چنین از آقای وکیلی و مهندس جامعی به خاطر مساعدت‌ها وراهنمایی‌های ارزشمندشان قدردانی می‌کنم.

منابع مورد استفاده

۱. خواجه احمد عطاری، ع. ۱۳۶۷. تنوع جغرافیایی صفات کمّی خوشه در کلکسیون گندم ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران.

۲. شریفی، ی. ۱۳۸۰. بررسی اثر خشکی بر مقدار پروتئین کل و پرولین آزاد در کشت بافت گیاه کنجد. پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران.

۳. شوت، پ. ۱۳۷۴. *گیاهان اقتصادی جهان (ترجمه م. پور صالح)*. انتشارات مؤسسه اصلاح بذر وتهیه نهال کرج .

۴. کروری، س. ۱۳۷۸. پاسخ آنزیمی درختان به استرس‌های محیطی. مجله علمی- پژوهشی وزارت جهاد کشاورزی ۱۴(۴):۲-۶.

۵. مهران. م. ۱۳۵۵. *آزمایش روغن*. انتشارات دانشگاه تهران.

۶. وایز، ای. ا. ۱۳۷۵. *دانه‌های روغنی(ترجمه ف. ناصری)* . انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد

۷. نصر، ز. ۱۳۸۲. ارزیابی ومقایسه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مهم دانه در برخی ارقام سویا. پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه.

8. Davidyan, G . G. and I. Sharov. 1994. Evalution of a collection of Flax varieties for use in breeding. Trudy Poprikadnoi Botanike. Genetike Selektsii 55(1) : 3 – 20.
9. Health and Welfare Canada. 1990. Nutrition Recommendations.The Report of the Scientific Review Commoittee. Department of Supply and Services , Cat. No. H49-42/1990E, Ottawa, ON.
10. Hames, B.D. and D. Rickwood. 1990. Gel Electrophoresis of Protein, A Practical Approach. Oxford University Press, England.
11. Industrial Crops Research Korea. 1983. New early maturing sesame variety . Sesame and Safflower Newsletter. J. Fernandez Martinez 3: 22-24.
12. Lakshmi,T. and P. Nandi. 1977. Aggregation, dissociation and denaturation of sesame (*Sesamum indicum* L.) alpha-globulin in trimethyl ammonium bromide solution. Int. J. Pept. Protein Res. 10(2): 120-8.
13. Spangnoletti, Z. and C. Qualset. 1987. Geographical diversity for quantitative spike characters in a world collection of durum wheat. Crop Sci. 27: 235-241.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.40.18.8]