

استفاده از نشانگرهای پروتئین‌های جنینی و ذخیره‌ای بذر در جداسازی چهار رقم پسته

علی اکبر احسانپور^{*}، استاد گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان
بهرخ شجاعی، دانشجوی دکتری گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
فاطمه رستمی، کارشناس ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

چکیده

استفاده از نشانگرهای پروتئینی در جدا سازی ارقام پسته به عنوان یک منبع ارزشمند غذایی بسیار مهم است. در این مطالعه الگوی پروتئین‌های جنین‌های چهار رقم پسته ایرانی، شامل: اکبری، احمدآقایی، فندقی و کله‌قوچی با استفاده از روش SDS-PAGE بررسی گردید. حضور باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۴۵ و ۹۰ کیلو دالتون در الگوی پروتئینی محورهای جنینی، به ترتیب در ارقام کله‌قوچی و اکبری و غیاب باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۳۰ و ۲۰ کیلودالتون در الگوی پروتئینی لپه‌ها به ترتیب در ارقام کله‌قوچی و اکبری می‌تواند به عنوان نشانگرهای پروتئینی برای این ارقام پسته معرفی شود. از سوی دیگر، بیان حداکثر باند ۴۵ کیلو دالتونی در الگوی پروتئینی لپه‌ها، می‌تواند نشان‌دهنده یک نشانگر پروتئینی برای رقم احمدآقایی باشد.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز، پسته، جنین، شناساگر پروتئینی

مقدمه

برای شناسایی گونه‌ها، واریته‌ها و ارقام زراعی در گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. این روش برای مقایسه الگوهای پروتئینی ارقام مختلف گیاهی معتبر، قابل تکرار، سریع و ارزان است. حضور یا غیاب و سطح بیان باندهای پروتئینی، شاخص مهمی برای شناسایی گیاهان است (Dvoracek *et al.*, 2003; Fufa *et al.*, 2005).

نشانگرهای مولکولی مانند الگوهای DNA و پروتئین ابزار مفید و ارزشمندی برای آنالیز تفاوت‌های ژنتیکی (heterogeneity) ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی است. نشانگرهای DNA برای تعیین نقشه ژنتیکی، شناسایی موجودات، مطالعات فیلوژنتیک و دست‌ورزی ژنتیکی استفاده می‌شوند. به کارگیری نشانگرهای پروتئینی با استفاده از روش SDS PAGE

and Svensson, 2003; Bønsager *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010) تفاوت در سطح بیان پروتئین‌ها نیز برای شناسایی خصوصیات فیزیولوژیک گیاهان استفاده شده است (Aghaei *et al.*, 2008). از آنجا که نوع و ترکیب پروتئین دانه تحت تأثیر شرایط محیطی قرار نمی‌گیرد، برای مطالعه تنوعات ژنتیکی ارزشمندتر از پروتئین‌های رویشی (vegetative proteins) هستند (Tamkoc and Arsalan, 2010). همچنین گزارش شده است که تنوع در الگوی باندهای پروتئینی دانه، اطلاعات مفیدی در مورد روابط فیلوژنتیکی در میان دانه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف جغرافیایی ارائه می‌دهد. برای مثال، Ahmad و Slinkard (۱۹۹۲) روابط فیلوژنتیکی را در میان گونه‌های *Cicer* بر اساس داده‌های حاصل از SDS-PAGE گزارش و پیشنهاد نمودند که *Cicer reticulatum* (chickpea) وحشی ارقام نخود (chickpea) است.

با توجه به اهمیت اقتصادی شناسایی و تشخیص رقم‌های مختلف پسته، در مراحل ابتدایی گیاهچه و به ویژه مرحله بذر پسته، هدف از این مطالعه، تحقیق و بررسی الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه و پروتئین‌های محورهای جنینی در چهار رقم پسته ایرانی (اکبری، احمدآقایی، فندق و کله‌قوچی) جهت معرفی باندهای پروتئینی به‌عنوان مارکر برای شناسایی و تفکیک این ارقام از یکدیگر است.

مواد و روش‌ها

ابتدا دانه‌های تازه و رسیده چهار رقم پسته (اکبری، احمدآقایی، فندق و کله‌قوچی) از باغ‌های پسته منطقه اردستان اصفهان جمع‌آوری گردید. سپس پوشش‌های

گیاه پسته با نام علمی *Pistacia vera* L. و عدد کروموزومی $2n=32$ متعلق به خانواده Anacardiaceae است. ایران یکی از بزرگترین تولیدکنندگان و صادرکنندگان پسته در دنیا است (Ehsanpour *et al.*, 2008). دانه‌های پسته منبعی غنی از پروتئین، لیپید و ویتامین‌هایی مانند A، B1، B2، C و نیاسین بوده، دارای درصد بالایی از پتاسیم، کلسیم و فسفر هستند. دانه‌های پسته‌های ایرانی از نظر شکل و اندازه متفاوت بوده، به چهار گروه عمده شامل: دایره‌ای شکل مانند رقم فندق، بزرگ و درشت مانند رقم کله‌قوچی و کشیده مانند ارقام اکبری و احمدآقایی تقسیم می‌شوند (اسماعیل پور، ۱۳۷۹).

جنین بالغ در گیاهان آنژیوسپرم دارای یک ریشه و ساقه جنینی و یک یا دو لپه است. دانه‌های پسته به‌عنوان یک گیاه دولپه مواد غذایی خود را عمدتاً به شکل پروتئین و لیپید در دولپه خود که برای رشد و جوانه‌زنی لازم است، ذخیره می‌کند (فریور مهین، ۱۳۷۰). پروتئین‌های ذخیره شده در لپه‌های پسته در گروه پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر قرار می‌گیرند. پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر یک گروه پروتئینی هستند که به مقدار زیاد در دانه‌های گیاهان در طی مراحل آخر تکوین دانه، تجمع می‌یابند (Sánchez-Romero *et al.*, 2002; Sergeant *et al.*, 2009). همچنین محورهای جنینی محتوی پروتئین‌هایی مانند LEA (late embryogenesis abundant protein) هستند که در جنین‌های بالغ تجمع می‌یابند (Campalans *et al.*, 2000).

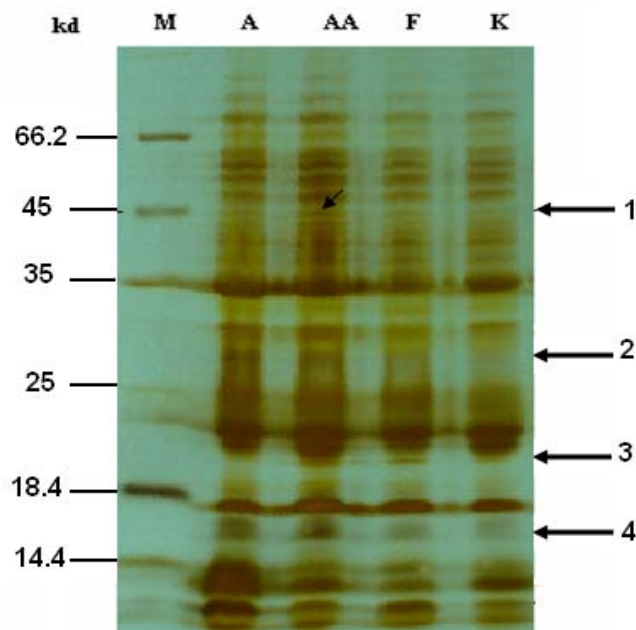
پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه و پروتئین‌های جنینی، پیش از این نیز برای مطالعه برخی از گیاهان زراعی مهم، مانند: گندم، برنج و جو استفاده شده‌اند (Finnie

پروتئینی به وسیله نرم‌افزار ImageJ آنالیز گردید. همه آزمایش‌ها در ۴ تکرار انجام و داده‌ها با کمک نرم‌افزار Sigma state 2 و آنالیز ANOVA و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ مقایسه گردیدند. همچنین بر پایه حضور و غیاب باندها و با تحلیل خوشه‌ای UGMA و استفاده از ضریب Jaccard روابط خویشاوندی ارقام پسته به کمک نرم‌افزار NTSYSPc2 ارزیابی گردید.

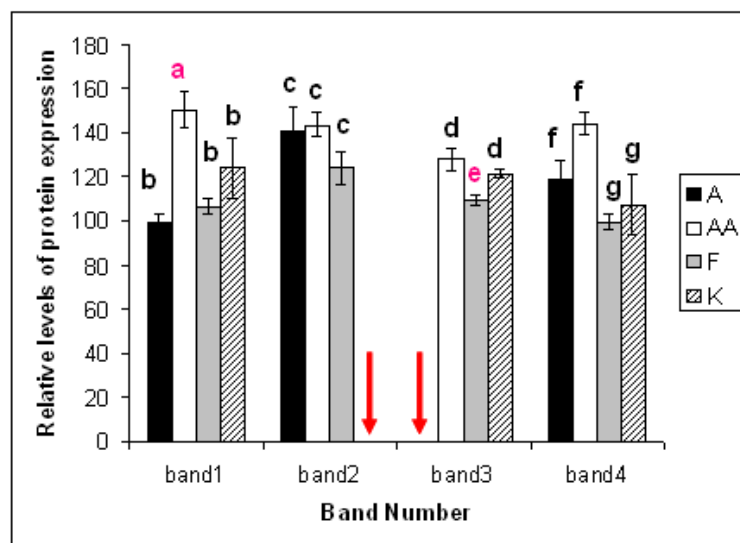
مشاهدات

نتایج حاصل از آنالیز پروتئین کل در لپه‌ها و محورهای جنینی ارقام اکبری (A)، احمد آقایی (AA)، فندق (F) و کله قوچی (K) تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (داده‌ها ارائه نشده‌اند). آنالیز الگوی پروتئینی لپه‌های چهار رقم پسته در شکل ۱ الف نشان داده شده است. پس از بررسی میزان بیان باندهای پروتئینی، مشخص گردید که باند ۱ (۴۵ کیلودالتون) به طور واضح بیشترین سطح بیان را در رقم احمد آقایی داشته است؛ بعلاوه، بیان باند ۲ (با وزن تقریبی ۳۰ کیلودالتون) و باند ۳ (با وزن تقریبی ۲۰ کیلودالتون) به ترتیب در رقم‌های کله قوچی و اکبری قابل تشخیص نبوده، در حالی که بیان این باندهای پروتئینی در سایر ارقام پسته مشاهده شد. همچنین، باند ۳ تفاوت معنی‌داری را در رقم فندق در مقایسه با رقم‌های احمد آقایی و کله قوچی نشان داد. علاوه بر این، باند ۴ (با وزن تقریبی ۱۶ کیلودالتون) بیشترین سطح بیان را در رقم‌های اکبری و احمد آقایی و کمترین سطح بیان را در رقم‌های فندق و کله قوچی نشان داد (شکل‌های ۱ الف و ۱ ب).

۲۰ عدد دانه پسته از هر رقم جدا و همچنین لپه‌ها و محورهای جنینی برای هر رقم از یکدیگر تفکیک شده، به طور جداگانه توسط نیتروژن مایع تبدیل به پودر گردیدند. سپس جهت چربی‌زدایی پودرهای حاصله از هر رقم، به آنها استون سرد اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر با سرعت ۵۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پودرهای فاقد چربی لپه‌ها و محورهای جنینی برای هر رقم پسته در دمای اتاق و به مدت ۸ ساعت در جریان هوا خشک گردیدند. سپس به پودرهای خشک شده هر رقم ۱ میلی‌لیتر محلول ۵۰ میلی‌مولار بافر تریس محتوی ۱ میلی‌مولار DTT، ۲ میلی‌مولار EDTA، ۲ میلی‌مولار مرکاپتواتانول $\text{pH} = 7.5$ اضافه شد و به نسبت ۱ به ۲۰ وزنی/حجمی به آن اضافه و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۵۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تکان داده شدند (Rostami and Ehsanpour, 2009). پس از این مدت سوسپانسیون‌های حاصله به مدت ۲۵ دقیقه در 14000 rpm در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردیدند. پس از این مرحله، محلول رویی از رسوب جدا و برای ارزیابی پروتئین از آن استفاده شد. اندازه‌گیری پروتئین کل (میلی‌گرم در گرم پودر فاقد چربی) بر اساس روش تغییر یافته Bradford (۱۹۷۶) با استفاده از BSA به‌عنوان استاندارد انجام گرفت (Olson and Markwell, 2007). آنالیز SDS-PAGE با استفاده از ژل جداکننده (separating) ۱۲٪ و متمرکزکننده (stacking) ۵٪ انجام گرفت (Hames, 1990) و پس از الکتروفورز در ۱۲۰ ولت باندهای پروتئینی با استفاده از نیترا نقره رنگ‌آمیزی و تراکم نسبی باندهای



شکل ۱ الف- الگوی الکتروفورزی (SDS-PAGE) پروتئین‌های لپه‌ها در رقم‌های پسته به ترتیب A: اکبری، AA: احمد آقایی، F: فندق، K: کله قوچی و M: مارکر پروتئینی



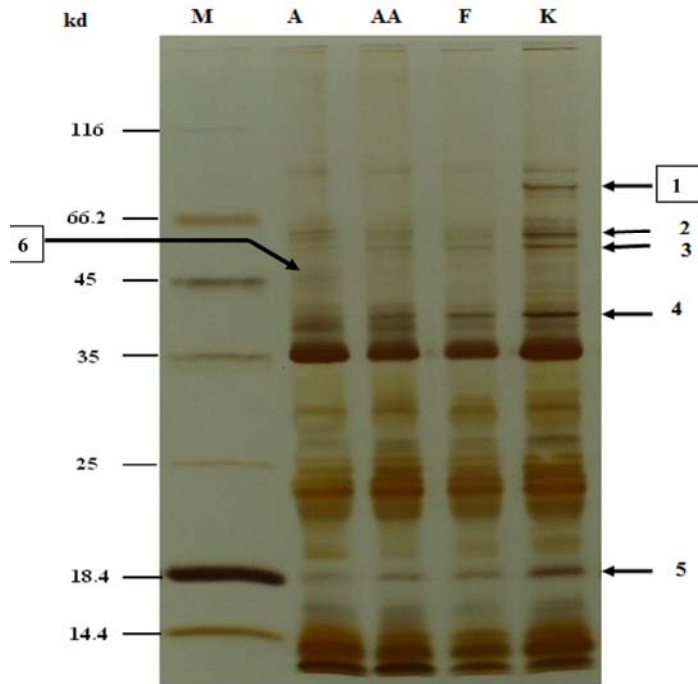
شکل ۱ ب- آنالیز میزان نسبی بیان پروتئین‌های لپه‌ها در رقم‌های پسته به ترتیب A: اکبری، AA: احمد آقایی، F: فندق و K: کله قوچی. (داده‌ها میانگین ۴ تکرار \pm SE هستند. حروف غیر مشابه برای هر باند پروتئینی به طور مستقل محاسبه شده و بیانگر معنی‌دار بودن داده‌ها ($P < 0.05$) با استفاده از آزمون دانکن است).

کیلودالتون) تنها در رقم کله‌قوچی و باند ۶ (با وزن تقریبی ۴۵ کیلودالتون) تنها در رقم اکبری حضور داشته

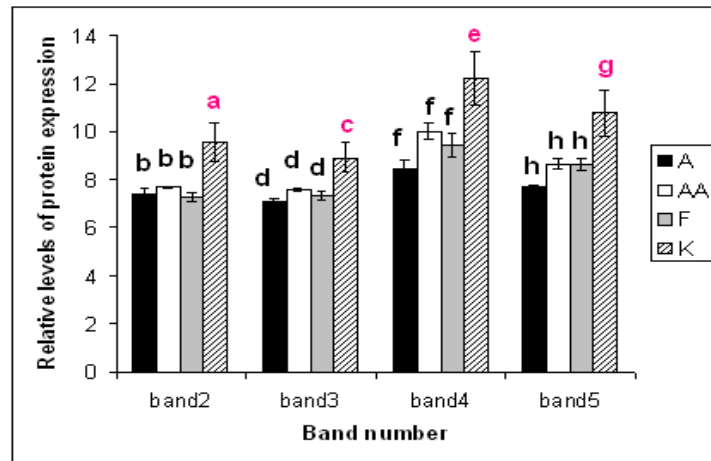
الگوی پروتئینی محورهای جنینی رقم‌های پسته مشخص کرد که باندهای ۱ (با وزن تقریبی ۹۰

سطح بیان آن‌ها را در رقم کله قوچی نسبت به سایر ارقام نشان داد (شکل‌های ۲ الف و ۲ ب).

و بیانشان در سایر رقم‌های پسته مشاهده نگردید. مقایسه سطح بیان باندهای پروتئینی ۲، ۳، ۴ و ۵ (به ترتیب با وزن‌های تقریبی ۶۰، ۵۵، ۴۰ و ۱۸ کیلودالتون) بیشترین



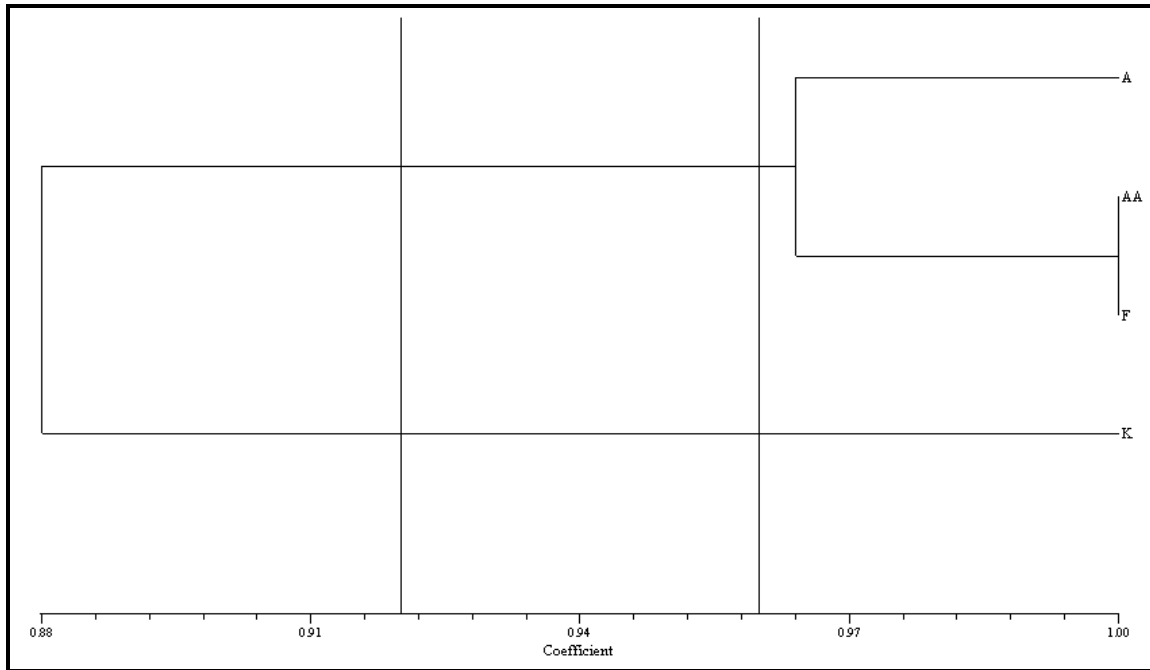
شکل ۲ الف- الگوی الکتروفورزی (SDS-PAGE) پروتئین‌های محورهای جنینی در رقم‌های پسته به ترتیب A: اکبری، AA: احمدآقایی، F: فندق، K: کله قوچی و M: مارکر پروتئینی



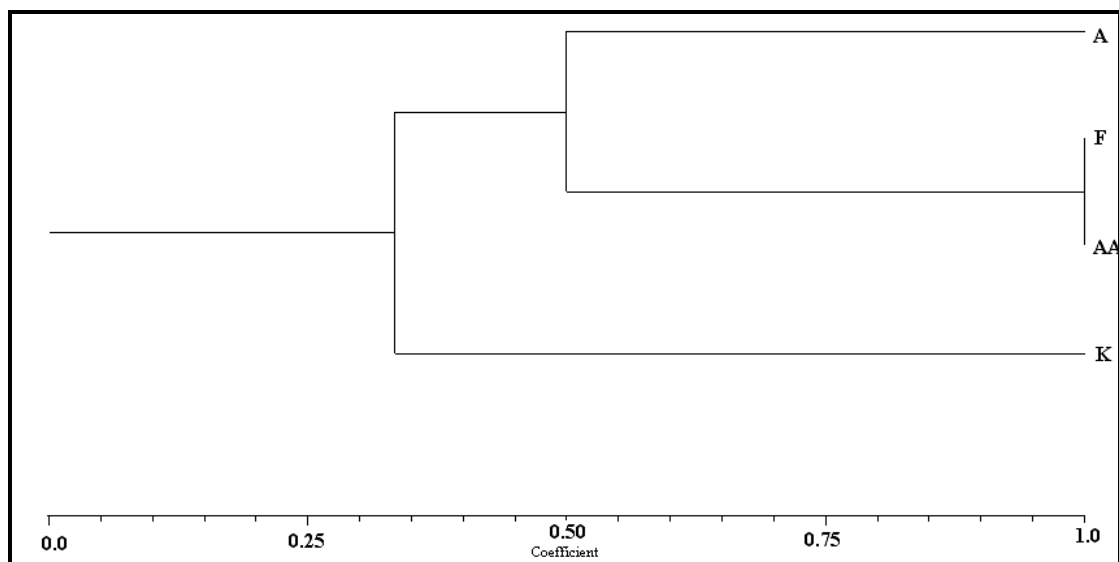
شکل ۲ ب- آنالیز میزان نسبی بیان پروتئین‌های محورهای جنینی در رقم‌های پسته به ترتیب A: اکبری، AA: احمدآقایی، F: فندق، K: کله قوچی. (داده‌ها میانگین ۴ تکرار \pm SE هستند. حروف غیر مشابه برای هر باند پروتئینی به طور مستقل محاسبه شده و بیانگر معنی دار بودن داده‌ها ($P < 0.05$) با استفاده از آزمون دانکن است).

احمدآقایی و فندقی دارای بیشترین شباهت با یکدیگر هستند، درحالی که رقم کله قوچی کمترین شباهت را با سایر ارقام دارد (شکل های ۳ الف و ۳ ب).

در این مطالعه، روابط خویشاوندی میان چهار رقم پسته بر پایه الگوی پروتئینی محورهای جنینی و لپه‌ها بررسی گردید. دندروگرام‌ها نشان دادند که رقم‌های



شکل ۳ الف - دندروگرام بررسی روابط خویشاوندی رقم‌های پسته بر اساس باندهای پروتئینی لپه‌ها. A: اکبری، AA: احمدآقایی، F: فندقی و K: کله قوچی.



شکل ۳ ب - دندروگرام بررسی روابط خویشاوندی رقم‌های پسته بر اساس باندهای پروتئینی محورهای جنینی. AA: احمدآقایی، F: فندقی و K: کله قوچی.

بحث و نتیجه‌گیری

شناساگرهای مولکولی نظیر نشانگرهای DNA و یا پروتئینی می‌توانند به عنوان ابزارهای مفید و قابل اعتمادی در شناسایی، تعیین تنوع ژنتیکی و بررسی روابط خویشاوندی رقم‌ها و گونه‌های گیاهی استفاده شوند. الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها می‌تواند باند(هایی) را به عنوان شناساگرهای مولکولی معرفی کند (Criley et al., 2008, Tamkoc and Arsalan, 2010). در این خصوص، بررسی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر و پروتئین‌های جنینی به دلیل عدم تأثیر پذیری از نوسان‌های محیطی به عنوان تکنولوژی قدرتمندی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Jha and Ohri, 1996; Dvoracek et al., 2003; Javid et al., 2004; Iqbal et al., 2008). از آنجا که نوع و میزان پروتئین‌ها در بذرها با مراتب ثابت‌تر از سایر بافت‌های گیاهی است (Magni et al., 2007) بنابراین، الگوی پروتئینی بذرها پسته بر پایه مطالعه حضور یا غیاب باندهای پروتئینی، تنوع ژنتیکی را مشخص می‌سازد.

در این مطالعه، حضور باند ۱ (با وزن تقریبی ۹۰ کیلودالتون) و باند ۶ (با وزن تقریبی ۴۵ کیلودالتون) در الگوی الکتروفورزی SDS-PAGE محورهای جنینی پسته به ترتیب در رقم‌های کله‌قوچی و اکبری و نیز عدم حضور باند ۲ (با وزن تقریبی ۳۰ کیلودالتون) و باند ۳ (با وزن تقریبی ۲۰ کیلودالتون) در الگوی الکتروفورزی لپه‌ها به ترتیب در رقم‌های کله‌قوچی و اکبری می‌تواند به عنوان شناساگرهای پروتئینی برای این ارقام (کله‌قوچی و اکبری) معرفی گردد. از سوی

دیگر، بیشترین میزان بیان باند ۱ (۴۵ کیلودالتون) در الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (لپه‌ها) در رقم احمدآقایی، آن را به عنوان شناساگر پروتئینی برای این رقم معرفی نمود. مشابه با مطالعه حاضر، الگوهای SDS-PAGE پروتئین‌های بذر به‌عنوان شناساگرهای پروتئینی برای شناسایی و مقایسه رقم‌های جو دو سر (Oat)، گونه‌های وحشی آلو (*Prunus*) گونه‌های *Triticum aestivum* و *Poa pratensis* نیز استفاده شده‌اند (Dvoracek et al., 2003; Fufa et al., 2005; Zeb et al., 2006; Zeinalabedini et al., 2008; Tamkoc and Arsalan, 2010).

نتایج بررسی حاصل از آنالیز روابط خویشاوندی بر اساس شکل ظاهری دانه‌های پسته قبلاً نشان داده بود که رقم‌های اکبری و احمدآقایی دارای بیشترین شباهت هستند، درحالی که نتایج بررسی روابط خویشاوندی بر اساس الگوی پروتئینی دانه‌های ارقام پسته (لپه‌ها و محورهای جنینی) نشان داد که رقم‌های احمدآقایی و فندق‌بیشترین شباهت و رقم کله‌قوچی کمترین شباهت را با سایر ارقام دارد (داده‌ها منتشر نشده است). مشابه با یافته‌های ما، Sadia و همکاران (۲۰۰۹) از حضور و یا عدم باند در الگوی پروتئینی به منظور آشکارسازی پلی‌مورفیسم رقم‌های *Brassica* استفاده نمودند. همچنین مطالعه پروتئینی مقایسه‌ای میان پروتئین‌های موجود در جنین زایگوتیک (ZE) و جنین سوماتیک (SE) درختان خرما با استفاده از SDS-PAGE و توالی‌یابی EDMAN انجام شده است (Sghaier et al., 2008). این بدان معنی است که الگوی باندهای پروتئینی و سطح بیان پروتئین‌های

ذخیره‌ای بذر و محور جنینی مشابه با مطالعه حاضر می‌تواند در شناسایی ژنوتیپ‌ها استفاده گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان لازم می‌دانند از شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، به خاطر حمایت بی‌دریغ از این پژوهش صمیمانه قدردانی کنند.

منابع

- اسماعیل پور، ع. (۱۳۷۹) بررسی و مقایسه عملکرد کمی و کیفی ۲۸ رقم پسته در شرایط رفسنجان. انتشارات مؤسسه تحقیقات پسته کشور، تهران.
- فریور مهین، ح. (۱۳۷۰) آفات و بیماری‌های مهم درختان پسته در استان کرمان، انتشارات سازمان ترویج و کشاورزی، کرمان.
- Aghaei, K., Ehsanpour, A. A. and Komatsu, S. (2008) Proteome Analysis of Potato under Salt Stress. *Journal of Proteome Research* 7(11): 4858-4868.
- 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.
- Bønsager, B. C., Finnie, C., Roepstorff, P. and Svensson, B. (2007) Spatio-temporal changes in germination and radical elongation of barley seeds tracked by proteome analysis of dissected embryo, aleurone layer, and endosperm tissues. *Proteomics* 7: 4528-4540.
- 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.
- Campalans, A., Pagès, M. and Messeguer, R. (2000) Protein analysis during almond embryo development. Identification and characterization of a late embryogenesis abundant protein. *Plant Physiology and Biochemistry* 38 (6): 449-457.
- 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., Tavasoli, M. and Arab, L. (2008) Sex determination of *Pistacia vera* L. using ISSR markers. *Malaysian Applied Biology* 37(2): 25-28.

- Finnie, C. and Svensson, B. (2003) Feasibility study of a tissue-specific approach to barley proteome analysis: aleurone layer, endosperm, embryo and single seeds. *Journal of Cereal Science* 38: 217–227.
- 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.
- Hames, B. D. (1990) One-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, In: *Gel electrophoresis of proteins*. 2nd ed., Oxford University Press, New York.
- 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.
- Irar, S., Brini, F., Goday, A., Masmoudi, K. and Pagès, M. (2010) Proteomic analysis of wheat embryos with 2-DE and liquid-phase chromatography (Proteome Lab PF-2D) A wider perspective of the proteome. *Journal of Proteomics* 73(9): 1707-1721.
- Javid, A., Ghafoor, A. and Anwar, R. (2004) Seed storage protein electrophoresis in groundnut for evaluating genetic diversity. *Pakistan Journal of Botany* 36(1): 25-29.
- Jha, S. S. and Ohri, D. (1996) Phylogenetic relationships of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. (pigeonpea) and its wild relatives based on seed protein profiles. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43(3): 275-281.
- Kim, S. T., Kang, S. Y., Wang, Y., Kim, S. G., Hwang, D. H. and Kang, K. Y. (2008) Analysis of embryonic proteome modulation by GA and ABA from germinating rice seeds. *Proteomics* 8: 3577-3587.
- Magni, C., Scarafoni, A., Herndl, A., Sessa, F., Prinsi, B., Espen, L. and Duranti, M. (2007). Combined 2D electrophoretic approaches for the study of white lupin mature seed storage proteome. *Phytochemistry* 68: 997-1007.
- Olson, B. J. S. C. and Markwell, J. (2007) Assays for determination of protein concentration. *Current Protocols in Protein Science* 3.4: 1-29.
- Rostami, F. and Ehsanpour, A. A. (2009) Application of silver thiosulfate (STS) on silver accumulation and protein pattern of potato (*Solanum tuberosum* L.) under *in vitro* cultivare. *Malaysian Applied Biology* 38(2): 49-54.
- Sadia, M., Salman, A. M., Rabbani, M. A. and Pearce, S. R. (2009) Electrophoretic characterization and the rRelationship between some *Brassica* species. *Electronic Journal of Biology* 5(1): 1-4.
- Sánchez-Romero, C., Perán-Quesada, R., Barceló-Muñoz, A. and Pliego-Alfaro, F. (2002) Variations in storage protein and carbohydrate levels during development of avocado zygotic embryos. *Plant Physiology and Biochemistry* 40:1043-1049.
- Sergeant, K., Pinheiro, C., Hausman, J. F., Ricardo, C. P., and Renaut, J. (2009) Taking advantage of nonspecific trypsin cleavages for the identification of seed storage proteins in cereals. *Journal of Proteome Research* 8: 3182-3190.
- Sghaier, B., Bahloul, M., Bouzid, G. R. and Drira, N. (2008) Development of zygotic and somatic embryos of *Phoenix dactylifera* L. cv. Deglet Nour: comparative study. *Scientia Horticulturae* 116: 169-75.

- 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 and Biotechnological Equipment* 24(1): 1573-1576.
- Wang, W., Meng, B., Ge, X., Song, S., Yang, Y., Yu, X., Wang, L., Hu, S., Liu, S. and Yu, J. (2008) Proteomic profiling of rice embryos from a hybrid rice cultivar and its parental lines. *Proteomics* 8: 4808-4821.
- Yang, P., Li, X., Wang, X., Chen, H., Chen, F. and Shen, S. (2007) Proteomic analysis of rice (*Oryza sativa*) seeds during germination. *Proteomics* 7: 3358-3368.
- Zeinalabedini, M., Majourhat, K., Khayam-Nekoui, M., Grigorian, V., Torchi, M., Dicenta, F. and Martı́nez-Go'mez, P. (2008) Comparison of the use of morphological, protein and DNA markers in the genetic characterization of Iranian wild *Prunus* species. *Scientia Horticulturae* 116: 80-88.
- Zeb, A., Zahir, A., Ahmad, T. and Abdumanon, A. (2006) Physiochemical characteristics of wheat varieties growing in the same and different ecological regions of Pakistan, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 9: 1823-1828.

Using protein markers of embryo and seed storage proteins in identification of four pistachio cultivars

Ali Akbar Ehsanpour*¹, Behrokh Shojaie² and Fatemeh Rostami²

¹ Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Falavarjan

² Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan

Abstract

Identification of protein marker for Pistachio cultivars, as a valuable source of food is important. In this study, the protein patterns of embryo from four pistachio cultivars including Akbari, Ahmad Aghaei, Fandoghi and Kaleghouchi were analyzed using SDS-PAGE. The presence of protein bands about 90 and 45 killo dalton (kd) in protein pattern of embryonic axes in cultivars Kaleghouchi and Akbari respectively and the absence of protein bands with approximate molecular weight 30 and 20 kd in protein pattern of cotyledons in cultivars Kaleghouchi and Akbari respectively can be used as protein markers for these pistachio cultivars. On the other hand, the maximum expression level of bands 45 kd in protein pattern of cotyledons could be indicative of a protein marker for cultivar Ahmad Aghaei.

Key words: Electrophoresis, Pistachio, Embryo, Protein marker