تاثیر منبع گرده بادام بر میزان پروتئین و اسید های آمینه در مراحل قبل و بعد از جوانه زنی بذر حاصل ازتلاقی بادام رقم "آ ۲۰۰" با ارقام"تونو"، "شاهرود ۱۲" و "آ۲۳۰"

سحر حاجی خانی[۱]،علی ایمانی[۲*]

۱- داشجوی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ابهر. ۲- دانشیار موسسه تحقیقات باغبانی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ،تهران،ایران.

*نویسنده مسئول: imnani_a45@yahoo.com

چکیده

این تحقیق طی سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ با هدف ارزیابی اثر نوع دانه گرده دهنده بر میزان قند، پروتئین، اسید های چرب و اسید های آمینه در بذر حاصل از دورگ گیری بادام "آ ۲۰۰" با شاهرود ۱۲، "آ۲۳۰" و تونو در مراحل قبل و بعد از جوانه زنی براساس آزمایش طرح بلوک های تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که. بیشترین مقدار پروتئین دراثر گرده زای"آ۲۳۰"بوده است و در مقابل کمترین آن از آن "تونو" بعد از جوانه زنی است. همچنین بین گرده زاها از نظر اثر گرده بر میزان اسید های آمینه در قبل و بعد از جوانه زنی تفاوت معنی داری مشاهده شد. به طوری که بیشترین مقدار اسید آمینه آسپارتیک اسید مربوط به رقم "شاهرود ۱۲"قبل از جوانه زنی (۰/۵۷۰٪) و کمترین مقدار مربوط به تاثیر گرده رقم "شاهرود ۱۲" بعد از جوانه زنی (۰/۱۳۶٪) بود.

کلمات کلیدی: بادام، جوانه زنی، هیبرید، مواد درونی بذر

مقدمه

در بذر بادام اجزای عمده پروتئین، آلبومین، گلوبولین، گلوتلین و پرولامین می باشند. میزان پروتئین بذر بادام از ۱۳ تا ۲۹ درصد بر حسب وزن خشک می باشد (Kodad *et al.*,2004). متداول ترین اسیدهای آمینه در پروتئین بادام، گلوتامیک اسید، اسپارتیک اسید، و آرژینین می باشند. هیچ اطلاعاتی از کنترل ژنتیکی محتوای پروتئین بادام موجود نیست، اما وجود ضرایب تغییرات زیاد این صفت بین ژنوتیپ ها و سال‌های مختلف نشان دهنده تاثیر شدید محیط و ژنتیک بر روی محتوی پروتئین ارقام و ژنوتیپ های مختلف بادام می باشد (Saura Calixto,1988; Zacheo et al.,2000). در تحقیقی میزان تغییرات پروتئین کل و میزان اسیدهای آمینه در بذرهای قهوه (*Coffea arabica* L.) در طی ۶ هفته جوانه زنی آنها بررسی شد. نتایج نشان داد که محتوی کل اسیدهای آمینه آزاد در طی جوانه زنی کاهش یافت. اسیدهای آمینه غالب در بذور قهوه را به ترتیب آسپاراژین، گلوتامیک اسید، آسپارتیک اسید، آلانین و لیزین، تشکیل دادند. به غیر از میزان تائورین که در طول جوانه زنی افزایش یافت، میزان سایر اسیدهای آمینه کاهش نشان داد (Massao and Mazzafera, 2000). در این راستا هدف از پژوهش حاضر تاثیر منبع گرده بر میزان پروتئین و اسید های آمینه در مراحل قبل و بعد از جوانه زنی بذور هیبرید حاصل ازتلاقی رقم بادام "آ ۲۰۰" با ارقام بادام"تونو"، "شاهرود ۱۲" و "آ۲۳۰" بود.

مواد و روش‌ها

دراین پژوهش تاثیر منبع گرده بر میزان و نوع قند های محلول، پروتئین، اسید های آمینه واسید های چرب در مراحل قبل و بعد از جوانه زنی بذور هیبرید حاصل ازتلاقی رقم بادام "آ ۲۰۰" با ارقام بادام"تونو"، "شاهرود ۱۲" و "آ۲۳۰" مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور پس از رسیدن بذور دورگ، بذور جمع آوری شده با محلول۲٪ قارچ کش ترا متیل تیورام دی سولفید

برای ۲ دقیقه ضد عفونی شدند.نمونه های بذر به مدت ۲۴-۴۸ساعت در معرض آب جاری قرار داده شدند.بعد از این مرحله میزان پروتئین و اسید های آمینه اندازه گیری شدند پس ازآن بذور در پرلیت مرطوب(درحد ظرفیت زراعی) در دمای۷درجه سانتی گراد نگه داری شدند. بذور در مرحله جوانه زنی(مشاهده ریشچه به اندازه ۵/سانتیمتر) میزان پروتئین و اسید های آمینه آنها دوباره مورد بررسی واقع شدند. به منظور اندازه‌گیری میزان پروتئین کل، پس از رسیدن بذور دورگ، ابتدا با محلول۲٪ قارچ کش تترا متیل تیورام دی سولفید برای ۲ دقیقه ضد عفونی شدند. نمونه های بذور به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در معرض آب جاری قرار داده شدند. نمونه گیری در مرحله اول در این زمان انجام شد. پس ازآن بذور در پرلیت مرطوب (درحد ظرفیت زراعی) به مدت۱۰ هفته در دمای۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. بعد از جوانه زدن بذرها، مجددا نمونه برداری به منظور اندازه گیری پروتئین کل انجام شد. برای اندازه گیری پروتئین کل ۰/۵ گرم مغز (بذر) را با ۶/۲۵ میلی‌لیتر محلول بافر استخراج، مخلوط کرده و ۲۴ ساعت نگهداری شد (برای تهیه یک لیتر محلول بافر استخراج، ۱۲۱/۴ گرم تریس را در یک لیتر آب مقطر حل کرده و توسط اسید کلریدریک نرمال, pH آن را به ۶/۸ رسانده شد). بعد از ۲۴ ساعت، بذرها را در داخل محلول بافر و در هاون چینی, کاملاً له نموده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفوژ با ۶۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. بعد از سپری شدن این مدت، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل را برداشته و ۵ میلی‌لیتر معرف بردفورد به آن اضافه کرده (برای تهیه معرف بیورد ۱۰۰ میلی گرم کوماس بلوجی ۲۵۰ را با ۵۰ میلی لیتر اتانول خالص مخلوط کرده و به حجم ۸۰۰ میلی‌لیتر رسانیده و از صافی عبور داده و حجم محلول صاف شده را با ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک خالص و آب مقطر به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد). محلول حاصل را با محلول بافر استخراج, در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده و در طول موج ۵۹۵ نانومتر میزان جذب آن قرائت شد. برای تهیه استاندارد پروتئین ۱۰۰ میلی گرم آلبومین گاوی را در ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج حل کرده و به حجم رسانده شد. بعد از آن مقادیر ۱۰ تا ۹۰ میکروگرم بر لیتر (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۹۰) استاندارد تهیه کرده و توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر میزان جذب را قرائت شد(Bradford, 1976).

به منظور اندازه‌گیری میزان اسیدهای آمینه، پس از آماده سازی نمونه های بذر، اندازه گیری اسیدهای آمینه نمونه های بذر طبق روش ماسائو و مازافرا (Massao and Mazzafera, 2000) انجام شد.برای این کار ابتدا نمونه ها توسط اسید کلریدریک ۶ نرمال هیدرولیز و پس از مشتق سازی، میزان اسید های آمینه توسطHPLC فاز معکوس در موسسه بیوتکنولوژی کرج تعیین گردید .نوع ستون مورداستفاده شده c- 18 و فاز متحرک دستگاه ترکیبی از محلول A(بافر استات سدیم) و محلولB (آب و استونیتریل) و میزان جریان ۱میلی لیتر بر دقیقه بود .اسیدهای آمینه در دمای ۳۸ درجه سانتی گراد با استفاده از دتکتور UV در طول موج ۲۵۸ نانومتر اندازه گیری شدند(Fatima *et al*., 2012).در نهایت داده های حاصل از آزمایش در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار با استفاده ازتجزیه آماری نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) انجام گرفت.

نتایج وبحث

نتایج حاصل از مقایسه میانگین تاثیرگرده بر میزان پروتئین(میلی گرم/گرم ماده خشک) قبل و بعد از جوانه زنی بذور هیبرید حاصل ازتلاقی رقم "آ ۲۰۰" با ارقام" تونو"، "شاهرود ۱۲" و "آ۲۳۰" "در جدول ۱ارائه شده است.

همان طور که در جدول ۱ نشان می دهد بیشترین مقدار پروتئین دراثر گرده زای"آ۲۳۰"بوده است و در مقابل کمترین آن از آن "تونو" بعد از جوانه زنی است که نشان دهنده اثر نوع گرده بر میزان پروتئین است . میزان پروتئین بذر بادام از ۱۳ تا ۲۹ درصد بر حسب وزن خشک گزارش شده است (Kodad *et al*.,2004).

جدول۱ مقایسه میانگین تاثیرگرده بر میزان پروتئین(میلی گرم/گرم ماده خشک) قبل و بعد از جوانه زنی بذور هیبرید حاصل ازتلاقی رقم "آ ۲۰۰" با ارقام" تونو"، "شاهرود ۱۲" و "آ۲۳۰"

رقم	میانگین پروتیین
"آ۲۳۰" (B)	۲۰/۳۸d
"شاهرود ۱۲" (B)	۲۱/۱۷f
" تونو" (B)	۲۷/۱۰e
"آ۲۳۰" (A)	۹۵/۱۹a
"شاهرود ۱۲" (A)	۴۳/۰۱c
" تونو" (A)	۶۷/۷۴b

*وجود حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف معنی دار بین میانگین ها می باشدB: تاثیر گرده قبل از جوانه زنی ؛A : تاثیر گرده بعد از جوانه زنی

اطلاعاتی از کنترل ژنتیکی محتوای پروتئین بادام موجود نیست، اما وجود ضرایب تغییرات زیاد این صفت بین ژنوتیپ ها و سال‌های مختلف نشان دهنده تاثیر شدید محیط و ژنتیک بر روی محتوی پروتئین ارقام و ژنوتیپ های مختلف بادام می باشد (Saura Calixto *et al*.,1988). میزان پروتئین های کل در قبل از جوانه زنی به طور متوسط کمتر بود که مقدار آن ها با جوانه زنی بذر ها به طور معنی داری افزایش یافت که نشان دهنده ساخته شدن پروتئین های جدید در حین جوانه زنی بذر می باشد (جدول ۱).. از طرفی میانگین تاثیرگرده بر میزان در صد اسیدهای آمینه قبل و بعد از جوانه زنی بذور هیبرید حاصل ازتلاقی رقم "آ ۲۰۰" با ارقام"تونو"، "شاهرود ۱۲" و "آ۲۳۰" در جدول ۲ارائه شده است.

همان طور که در جدول شماره ی ۲مشاهده می شود بیشترین مقدار اسید آمینه آسپاراتیک اسید مربوط به "شاهرود ۱۲"قبل از جوانه زنی (۰/۵۷۰٪) و کمترین مقدار مربوط به تاثیر گرده "شاهرود ۱۲" بعد از جوانه زنی (۰/۱۳۶٪) می باشد.از طرفی بیشترین مقدار آسپاراژین مروط به تاثیر گرده "تونو" (۰/۵۸۷٪) و کمترین مقدار مربوط به "آ۲۰۰" (۰/۰۶۶٪) قبل از جوانه زنی است. بیشترین مقدار سرین مربوط به تاثیر گرده "تونو" (۱/۸۱٪) قبل ازجوانه زنی و کمترین مقدار مربوط به "آ۲۰۰" (۰/۰۷۲٪) بعد از جوانه زنی است. بیشترین مقدار هیستیدین مربوط به تاثیر "شاهرود ۱۲" (۱/۰۸۶٪) و کمترین مقدار مربو ط به "آ۲۳۰" قبل از جوانه زنی (۰/۱۴۹٪) است. بیشترین مقدار گلوتامین در اثر گرده "تونو" (۱/۴۱۹٪) قبل از جوانه زنی و کمترین مقدار مربوط به "آ۲۳۰" (۰/۲۹۵٪) بعد از جوانه زنی است. همچنین بیشترین مقدار آلانین مربوط به اثر "شاهرود ۱۲" (۰/۷۲۱٪) قبل از جوانه زنی و کمترین مقدار مربوط به "تونو" (۰/۲۰۴٪) بعد از جوانه زنی می باشد.و اما بیشترین مقدار aآمینو بوتیریک اسید مربوط به اثر "تونو" (۰/۳۸۶٪) و کمترین مقدار مربوط به اثر دانه گرده "شاهرود ۱۲" (۰/۰۵۴٪) قبل از جوانه زنی می باشد.

جدول ۲ مقایسه میانگین تاثیرگرده بر میزان در صد اسیدهای آمینه قبل و بعد از جوانه زنی بذور هیبرید حاصل ازتلاقی رقم "آ ۲۰۰" با ارقام"تونو"، "شاهرود ۱۲" و "آ۲۳۰"

رقم	٪آسپارتیک اسید	٪گلوتامیک اسید	٪آسپاراژین	٪سرین	٪هیستیدین	٪گلوتامین	٪گلیسین	٪ترئونین	٪سینروئین	٪آرژنین	٪توروین	٪آلانین	٪آمینو بوتیریک اسید	٪تریپتوفان	٪میتیونین	٪والین	٪فنیل آلانین	٪ایزولوسین	٪لوسین
"آ۲۳۰" (B)	/۲۵۴c	۰/۳۰۹a	۰/۰۶۶f	۰/۵۹ c	۰/۵۵۵c	۰/۴۲۲c	۰/۴۱۸a	۰/۲۱۷b	۰/۰۴۷c	۰/۳۸۵b	۱/۴۹۲b	۰/۳۰۴c	۰/۰۵۴d	۰/۶۹۳c	۰/۳۰۴c	۰/۳۰۲c	۰/۳۴۸c	۰/۷۷۳c	۰/۱۴۶c
"شاهرود ۱۲" (B)	۰/۵۷۰a	۰/۳۰۹a	۰/۲۰۱d	۱/۵۱b	۱/۰۸۶a	۰/۸۹۹b	۱/۰۱۲a	۰/۴۰۸a	۰/۱۰۳b	۱/۱۸۳a	۲/۰۵۷a	۰/۷۲۱a	۰/۱۴۷c	۱/۶۵۹b	۰/۷۳۲a	۰/۶۶۳b	۰/۸۳۱b	۱/۶۲۴b	۰/۲۱۹a
"تونو" (B)	۰/۴۸۱b	۰/۳۳۸a	۰/۱۵۰e	۱/۸۱a	۰/۷۴۸b	۱/۴۱۹a	۰/۹۲۸a	۰/۳۸۸a	۰/۱۰۵b	۱/۱۹۳a	۱/۸۳۳a	۰/۶۵۰b	۰/۰۶۸d	۲/۷۰۶a	۰/۶۵۰b	۰/۷۱۸a	۰/۹۵۲a	۲/۳۳۶a	۰/۲۲۹a
"آ۲۳۰" (A)	۰/۱۳۶e	۰/۲۸۳a	۰/۳۶۶c	۰/۰۷۲d	۰/۱۴۹e	۰/۲۹۵d	۰/۱۰۷b	۰/۲۲۱b	۰/۱۱۵a	۰/۰۲۹c	۰/۱۸۷c	۰/۲۱۸d	۰/۳۰۹b	۰/۲۹۳d	۰/۲۱۸d	۰/۲۰۱e	۰/۳۳۱d	۰/۳۳۶f	۰/۲۱۹a
"شاهرود ۱۲" (A)	۰/۱۷۸d	۰/۳۴۸a	۰/۴۹۳b	۰/۰۷۵d	۰/۱۴۹d	۰/۲۸۳d	۰/۱۶۱b	۰/۲۱۸b	۰/۱۵۴b	۰/۰۳۷c	۰/۲۰۲c	۰/۲۲۱d	۰/۳۶۵a	۰/۲۸۰d	۰/۲۲۱d	۰/۲۱۴d	۰/۲۲۱e	۰/۳۴۹e	۰/۲۱۵b
"تونو" (A)	۰/۱۴۴e	۰/۰۹۲a	۰/۵۸۷a	۰/۰۷۴d	۰/۲۰۸d	۰/۴۳۲c	۰/ ۳۶b	۰/۲۴۰b	۰/۱۶۴a	۰/۱۶۱c	۰/۲۲۰c	۰/۲۰۴e	۰/۳۸۶a	۰/۲۹۲d	۰/۲۰۴e	۰/۲۱۲d	۰/۲۱۶e	۰/۳۷۹d	۰/۲۲۹a

وجود حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف معنی دار بین میانگین ها می باشد

از طرفی بیشترین مقدار اسید آمینه تریپتو فان بعد از جوانه زنی, در اثر گرده رقم "شاهرود ۱۲" بیشترین مقدار (۰/۷۳۲٪) و کمترین مقدار مربوط به رقم "تونو" (۰/۲۰۴) است. از طرفی بیشترین مقدار والین "تونو" قبل از برداشت (۰/۷۱۸٪) و کمترین آن مربوط به "آ۲۰۰" (۰/۲۰۱٪) بعد از جوانه زنی می باشد. اما اسید آمینه ی فنیل آلانین بیشترین مقدار را در اثر گرده رقم "تونو" قبل از جوانه زنی (۰/۹۵۲٪) و کمترین مقدار آن مربوط به رقم "تونو" (۰/۲۱۶٪) بعد از جوانه زنی است. همچنین بیشترین مقدار ایزو لوسین مربوط به اثر گرده رقم "تونو" (۲/۳۳۴٪) قبل از جوانخ زنی و کمترین مقدار آن مربوط به "شاهرود ۱۲" (۰/۳۳۶٪) بعد از جوانه زنی است. گرچه نتایجی مشابهی در رابطه با تاثیر گرده زاها برخی صفات گزارش شده است(Garcia-Gusano *et al.*, 2004; Ortega et al., 2006; Socias i Company *et al.*, 2010) ولی هیچ اطلاعاتی از کنترل ژنتیکی محتوای پروتئین بادام موجود نیست. در جمع بندی کلی می توان گفت که تاثیر گرده بر ترکیب شیمیایی دانه بادام به صورت متنوع بوده است. به طوری که در اکثر گزارش ها تاثیر گرده بر خصوصیات فیزیکی میوه معنی دار نبوده است و یا اگر تفاوت هایی جزئی مشاهده شده احتمالاً به دلیل تاثیر شرایط آب و هوایی و شرایط رشد بوده است. با وجود این، اطلاعات کمی در مورد کنترل ژنتیکی و ارثی از اجزای بیوشیمیایی کیفیت بادام شناخته شده است. با این حال، اطلاعات ارائه شده در این گزارش نشان داده است که تمام پارامترهای مورد برسی برای کیفیت بادام تاحدودی تحت تاثیر نوع گرده بوده ولی نیاز به برسی هایی بیشتری دارد.

منابع

1. Bradford, M. M.;(1976).“A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.” Anal. Biochem. 72: 248-254.

2. Garcia-Gusano, M., Martı´nez-Go´mez, P.and Dicenta, F.;(2004). Breaking seed dormancy in almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb). Sci. Hort. 99 :363–370.

3. Fatima, A., AL-Asbahi, A., Alhammadi, AA and Abdullah, Q.A.;(2012). The effects of free amino acids profiles on seeds germination/dormancy and seedlings development of two genetically different cultivars of Yemeni Pomegranate. J. Stress Physi. & Biochemi. 8 (1): 114-137.

4. Kodad, O., Socias i Company, R., Gracia Gómez, M.S., Martínez Lázaro, J.M. and Bonilla, A.(2004). La composición de la almendra como criterio para su utilización industrial y como base para la selección en un programa de mejora genética, pp. 1094–1102. Actas III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos, Pamplona.

5. Massao M.S. and Mazzafera P.;(2000).Compositional changes of proteins and amino acids in germinating coffee seeds. Braz. J. Agr. Research. 13: 125-131.

6. Ortega E., Martinez-Garcia P.J.and Dicenta F. E.; (2006). Influence of self-pollination in fruit quality of autogamous almonds. Sci. Hort. 109: 293–296

7. Saura Calixto, F., Cañellas, J. and Soler, L.;(1988). La almendra: Composición, variedades, desarrollo y maduración. INIA, Madrid.

8. Socias i Company R., Kodad O., Alonso J.M. and Font-Forcada, C.;(2010). Fruit quality in almond: Chemical aspects for breeding strategies Options Méditerranéennes. 94: 2010 — XIV GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds.

9. Zacheo,G., Cappello,M.S., Gallo, A., Santino,A. and Cappello. A R. ;(2000). Changes associated with postharvest ageing in almond seeds. Lebensm.-Wiss. Technol. 33:415–423.

Effect of pollen source on of amino acid, and protein in seeds from A-200 cultivar (♀) ×A-230, Shahrood 12 and Tuono (♂)

S. Hajikhani[1], A. Imani[2*]

1- Department of Horticultural Science, Islamic Azad, University of Abhar, Abhar – Iran. 2- Corresponding author: Horticultural Department of Seed and Plant Improvement Institute (SPII), , Agricultural Research Education and Extension Organization(AREEO), Tehran, Iran.

*Corresponding author: imnani_a45@yahoo.com

Abstract

This study was carried out during 2011 and 2012 on randomized complete bloke design (RCBD) in triplicate with the aim to assess the effect of pollen of A230, Shahrood12 and Tuono on seed germination rate and some of the changes the inner material of seed of A-200 cultivar (mother parent) such as the amino acid and, protein, in Steps of before and after germination. The overall results of this study showed that the effect of pollen of A230, Shahrood12 and Tuono on inner material of seeds of A-200 cultivar was significant. The maximum amount of total protein in the seeds of A-200 from crossing with of A-230 was observed while the minimum amount of total protein in seed of A-200 from the hybridizing of touno after germination was obtained. In this study, it was found that the effect of pollen on the amount of amino acids in seed of A200 from the hybridizing of A-230, Shahrood 12 and Touno, the before and after germination was significant difference. So that, the most and lowest of the Aspartic acid with 0.570% (before germination) and 0.136% (after germination) was correspond to Shahrood 12 and Shahrood 12 respectively.

Key words: germination, almond, amino acids, inner material of seed