Archive of SID

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره ۵، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲)

تعیین تنوع ژنتیکی مورفوتیپ‌های گندم وحشی *Triticum boeoticum* ایران بر اساس تنوع آللی مکان‌های ژنی Glu-1A و Glu-3A

مرتضی جعفرآقایی[۱]، جعفر ذوالعلی[۲*]، محمد جعفرآقایی[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.
۲- عضو هیات علمی بخش بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان.
۳- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۲۴، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۴/۷

۵۷ - ۷۵

چکیده

تنوع ژنتیکی تعدادی از مورفوتیپ‌های گندم وحشی *Triticum boeoticum* کلکسیون بانک ژن ملی گیاهی ایران، بر اساس تنوع آللی مکان‌های ژنی Glu-1A و Glu-3A با استفاده از الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین‌های گلوتنین بذر مورد بررسی قرار گرفت. تنوع آللی بسیار گسترده‌ای در بین مورفوتیپ‌های آزمایش شده مشاهده شد. در محدوده مکان ژنی Glu-1A در مجموع ۸ الگوی باندی با ۱۰ آلل و در محدوده مکان ژنی Glu-3A نیز ۲۵ الگوی باندی با ۱۳ آلل مشخص گردید. توزیع برخی آلل‌ها در یک محدوده جغرافیایی مشخص مشاهده گردید و ژرم پلاسم جمع‌آوری شده از دو استان آذربایجان شرقی و غربی بیشترین تعداد آلل‌های مشاهده شده را به خود اختصاص داد. بر اساس تجزیه خوشه‌ای، مورفوتیپ‌های مورد آزمایش از جمعیت *Triticum boeoticum* ایران به تفکیک منطقه پراکنش، به سه گروه تقسیم گردیدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان‌های آذربایجان غربی، لرستان، ایلام، کرمانشاه و کردستان در گروه اول، نمونه‌های جمع‌آوری شده از آذربایجان شرقی و فارس در گروه دوم و نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان زنجان در گروه سوم قرار گرفتند. با توجه به آن که تحقیقات بهنژادی گیاهی نیازمند وجود تنوع می‌باشد، میزان بالای تنوع ژنتیکی مشاهده شده در مکان‌های ژنی Glu-1A و Glu-3A در مورفوتیپ‌های وحشی *Triticum boeoticum* ایران، این ژرم‌پلاسم را بعنوان منبعی ارزشمند برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی گندم جهت بهبود کیفیت نانوائی و سایر صفات ارزشمند زراعی مطرح می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: گندم، تنوع ژنتیکی، پروتئین ذخیره‌ای، *Triticum boeoticum*، مکان ژنی *Glu-1A*.

www.SID.ir

*نویسنده مسئول: جعفر ذوالعلی تلفن: ۰۳۴۱۳۲۰۲۶۳۸ Email: j.zolala@uk.ac.ir

Archive of SID

مقدمه

گندم که از جایگاه بسیار مهمی در جیره غذایی انسان برخوردار است، به عنوان یک ابزار سیاسی و اقتصادی در جهان مطرح گردیده است. تغییرات ژنتیکی بوجود آمده طی اهلی شدن و در نهایت تولید گندم‌های مدرن باعث گردید که ارقام تجاری از لحاظ سازگاری نسبت به گندم‌های وحشی ضعیف تر باشند و در شرایط محیطی برابر از توان رقابتی کمتری نسبت به اجداد وحشی خود برخوردار باشند (Shewry, 2009). کاهش تنوع ژنتیکی، علاوه بر کاهش بازدهی برنامه‌های اصلاحی باعث ایجاد یکنواختی ژنتیکی در مزارع و آسیب پذیری شدید محصولات کشاورزی در برابر آفات، بیماری‌ها و تنش‌های محیطی می‌گردد. منابع ژنتیکی گیاهی، علاوه بر زیربنایی برای توسعه کشاورزی، به عنوان منبعی از سازگاری ژنتیکی در برابر تغییرات محیطی عمل می‌نمایند (Abdemishani & Shahnejat-Boshehry, 1998). هرچند از لحاظ گیاهشناسی، دانشمندان تقسیمات متفاوتی را برای گندم دیپلوئید حامل ژنوم A ارائه نموده‌اند، ولی می‌توان آن را شامل گونه‌ی *T. urartu*، زیرگونه‌ی *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و زیرگونه‌ی *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* دانست (Feldman et al., 1995; Mac Key, 1988). ژنوم گونه *T. boeoticum* از بیشترین شباهت با ژنوم A گندم نان برخوردار می‌باشد (Kimber & Sears, 1987). بر اساس تقسیم‌بندی واویلف، ایران یکی از مناطق اصلی منشاء گونه‌های اجداد وحشی گندم بوده و مناطق غربی ایران از آذربایجان تا لرستان و فارس جزء محدوده پراکنش گونه‌های *T. boeoticum* و *T. urartu* در جهان می‌باشند (Zohary & Hopf, 2000).

پروتئین‌های گلوتنین به عنوان یکی از مهمترین پروتئین‌های ذخیره آندوسپرم گندم نقش بسیار مهمی در خواص نانوائی آرد گندم دارند. همچنین با توجه به ویژگی‌هایی نظیر کنترل ژنتیکی ساده، بروز همبارز، چندشکلی بالا و بی تاثیر بودن شرایط محیطی بر روی بیان این پروتئین‌ها، بررسی تنوع آللی آنها با استفاده از الکتروفورز به عنوان یکی از روش‌های مهم و موثر در مطالعه تنوع ژنتیکی گندم مطرح گردیده است (Abdemishani & Shahnejat-Boshehry, 1998). پروتئین‌های گلوتنین با وزن ملکولی بالا (HMWGs) بوسیله مکان ژنی Glu-1 و پروتئین‌های گلوتنین با وزن ملکولی پایین (LMWGs) توسط مکان ژنی Glu-3 کد می‌شوند. در بررسی الگوی الکتروفورزی، گلوتنین‌های گروه HMW به دو زیرواحد x با وزن ملکولی ۸۸ - ۸۳ کیلو دالتون و زیرواحد y با وزن ملکولی ٧٤ – ٦٧ کیلو دالتون تفکیک می‌شوند (Devoka, 2005). در رابطه با گلوتنین‌های گروه LMW، ۱۳ تا ۱۷ آلل در منابع مختلف گزارش شده است (Rodriguez et al., 1997).

این مطالعه با هدف بررسی تنوع ژنتیکی مورفوتیپ‌های وحشی *T. boeoticum* ایران بر

www.SID.ir

Archive of SID

اساس تنوع آللی مکان‌های ژنی Glu-1A و Glu-3A با استفاده از الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین‌های ذخیره بذر دانه انجام گرفت. نمونه‌های مورد مطالعه، نمونه‌هایی از گندم‌های دیپلوئید وحشی می‌باشند که از مناطق مختلف غرب کشور جمع‌آوری شده‌اند. نظر به اینکه غرب ایران به عنوان منطقه‌ای شناخته می‌شود که گونه‌های مختلف *T. boeoticum* در آن یافت می‌گردد، انتظار می‌رود که نتایج حاصل از این تحقیق، حقایق جدیدی را در رابطه با تنوع آللی در مکان‌های ژنی مذکور آشکار نماید. بدیهی است درک تنوع موجود در منابع ژنتیکی گندم دیپلوئید کشور به پروژه‌های اصلاحی گندم در این زمینه کمک شایانی خواهد کرد

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: نمونه‌های بذری از ۷٤ مورفوتیپ مختلف گندم *T. boeoticum*، شامل ۲۱ مورفوتیپ *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و ۵۳ مورفوتیپ *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* مورد آزمایش قرار گرفتند. این نمونه‌ها بخشی از کلکسیون گندم *T. monococcum* بانک ژن ملی گیاهی ایران می‌باشند. مجموع ۷۱ نمونه، از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری گردیده بودند و تعداد ۳ نمونه نیز شامل یک نمونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و دو نمونه *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* از کشورهای همسایه ایران مورد آزمایش قرار گرفتند. کلیه نمونه‌های آزمایش شده، قبلا بر اساس خصوصیات فنوتیپی به مورفوتیپ‌های مختلف تقسیم‌بندی شده بودند. همچنین این گندم‌ها قبلا مورد ارزیابی سیتوژنتیکی قرار گرفته و دیپلوئید بودن آنها ثابت گردیده بود (Jaffar Aghaei, 2010). چهار واریته زراعی گندم هگزاپلوئید (الوند، نیک نژاد، شهریار و چاینیز اسپرینگ) و گندم تتراپلوئید دوروم یاوارس به عنوان شاهد جهت ارزیابی الگوهای باندی نمونه‌های مورد آزمایش، مورد استفاده قرار گرفتند.

استخراج و الکتروفورز پروتئین: استخراج پروتئین از دانه گندم و الکتروفورز SDS-PAGE بر اساس روش Laemmli (1970) انجام شد. بدین منظور، ابتدا تعداد سه بذر از هر نمونه برداشته شده و پس از حذف جنین، خرد و له گردیدند. مواد گیاهی خرد شده به تیوب‌های اپندورف ۱/۵ میلی لیتری منتقل گردیده و ۲۰۰ میکرولیتر بافر استخراج (۱۸/۷۵ میلی‌لیتر بافر تریس ۲۰ درصد با ٦٨ PH=، ٦ گرم SDS، ۳۰ میلی‌لیترگلیسرول، ۲۵ میلی‌گرم کوماسی بلو، ۲۰۰ میکرولیتر بتامرکاپتواتانول و ۳٦/۱۵ آب مقطر) به آنها اضافه شد. تیوب‌ها به مدت دو ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند و محتویات آنها در فواصل ۱۵ دقیقه‌ای با استفاده از ورتکس مخلوط گردید. سپس به مدت ۸ تا ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند. به منظور غیر فعال نمودن آنزیم‌های پروتئاز، تیوب-ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۷۰

www.SID.ir

Archive of SID

تا ۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده و سپس جهت حذف مواد زائد به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۶۵۰۰ سانتریفوژ انجام شد. محلول شفاف روئی به تیوب اپندورف جدید منتقل گردید و تا زمان الکتروفورز در یخچال با دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

نمونه‌های پروتئین با استفاده از سیستم الکتروفورز ژل SDS-PAGE الکتروفورز گردیدند. بدین منظور مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه پروتئین در چاهکهای ژل پلی‌آکریلامید دو قسمتی با غلظت ٤ درصد در بخش فوقانی (ژل یکنواخت کننده) و ۱۰ درصد در بخش تحتانی (ژل تفکیک کننده) تزریق گردید. الکتروفورز با جریان ثابت ۳۰ میلی آمپر به ازای هر ژل صورت گرفت. رنگ‌آمیزی ژل پس از الکتروفورز با استفاده از محلول رنگ آمیزی (۰/۰۳ درصد کوماسی بلو، ۲۵ درصد متانول، ٦ درصد اسید تری‌کلرواستیک و ۸/۷۵ درصد اسید استیک گلاسیال) انجام شد.

شناسایی و رتبه بندی باندها: باندهای پروتئینی تفکیک شده در ژل پلی‌اکریلامید، پس از رنگ‌آمیزی با استفاده از محلول رنگ‌بری آشکار گردیدند. پس از عکس‌برداری از ژل‌ها، محدوده زیرواحدهای HMW-Gs و زیرواحدهای LMW-Gs از یکدیگر مجزا گردید. الگوی‌های باندی حاصل از الکتروفورز نمونه‌های پروتئینی استخراج شده از دانه‌ی چهار واریته زراعی گندم هگزاپلوئید شامل الوند با الگوی باندی "۱۲+۲، ۸+۷، ۱"، نیک نژاد با الگوی باندی "۱۰+۵، ۹+۷، *۲"، شهریار با الگوی باندی "۱۲+۲، ۸+۷، نول" و چاینیز اسپرینگ با الگوی باندی "۱۲+۲، ۸+۷، نول" و گندم تتراپلوئید دوروم یاوارس با الگوی باندی "۸+۷، نول"، به عنوان شاهد جهت شناسایی و رتبه‌بندی باندهای مشاهده شده در نمونه‌های مورد آزمایش، مورد استفاده قرار گرفتند. موقعیت هر باند در الگوی باندی یک نمونه با موقعیت مشابه در الگوی باندی سایر نمونه‌ها و نمونه‌های شاهد مقایسه گردید. بدین ترتیب در نرم‌افزار Excel بر اساس وجود یا عدم وجود یک باند در یک موقعیت معین، در خانه‌ی جدول اختصاص داده شده به آن موقعیت (متناظر با مکان آن بر روی ژل الکتروفورز)، رتبه ۱ یا صفر درج شد.

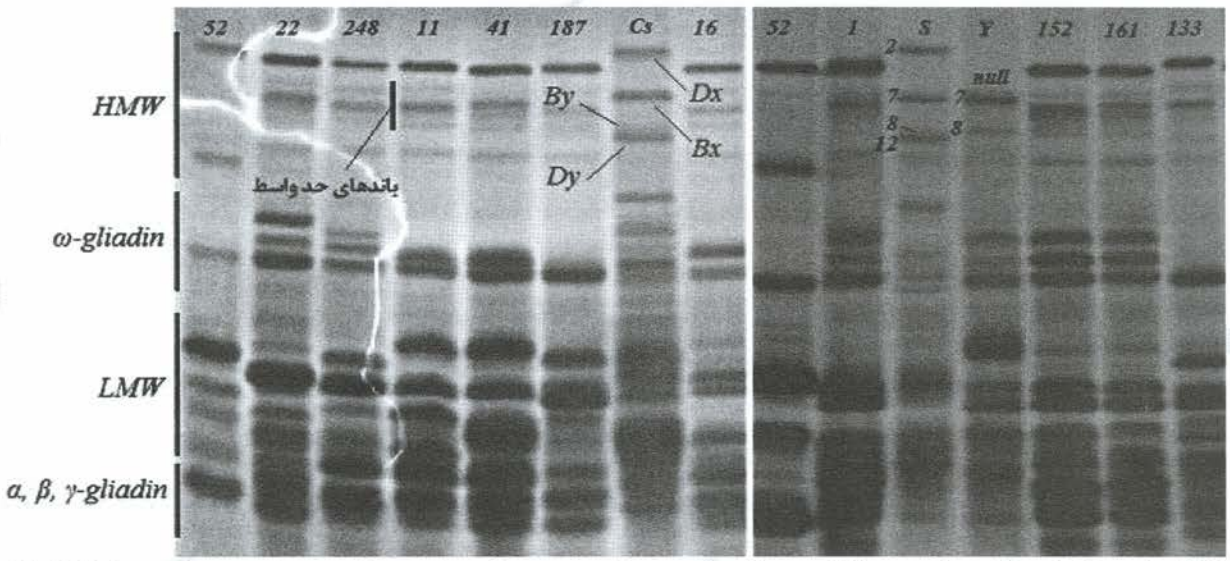
تعیین تنوع ژنتیکی: شاخص‌های تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف *T. boeoticum* ایران با استفاده از نرم افزار GDA محاسبه گردیدند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس فاصله ژنتیکی به روش UPGMA انجام شد و مورفوتیپ‌های آزمایش شده به تفکیک مناطق جمع‌آوری گروهبندی شدند. ترسیم دندوگرام، با استفاده از نرم افزار GDA بر اساس تنوع آللی هر دو مکان ژنی Glu-1A و Glu-3A انجام شد. سپس با استفاده از نرم افزار SPSS، برای استان‌های محل جمع آوری، نمودار مقیاس بندی دوبعدی تهیه گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

در جریان استخراج پروتئین، سدیم دودسیل سولفات موجود در بافر استخراج باعث حل شدن گلوتنین‌ها شده و بتامرکاپتواتانول باعث شکستن پیوندهای دی سولفیدی بین زنجیرهای پروتئین گلوتنین می‌گردد و زیرواحدهای گلوتنین آزاد می‌شوند. محدوده زیرواحدهای گلوتنینی HMW بطور کاملا مجزا از محدوده زیرواحدهای گلوتنینی LMW در ژل‌های SDS-PAGE تفکیک گردید (شکل ۱).



شکل ۱- تفکیک الکتروفورزی گلوتنین‌های ذخیره بذر در تعدادی از مورفوتیپ‌های *T. boeoticum* ایران. Y: یاوارس؛ S: شهریار؛ Cs: چاینیزاسپرینگ؛ ۵۲: نمونه‌ای از گندم *T. urartu*؛ ۱ و ۱۶: نمونه‌هایی از گندم *T. boeoticum* subsp. *boeoticum*؛ ۱۱، ۲۲، ۴۱، ۱۳۳، ۱۵۲، ۱۶۱، ۱۸۷ و ۲۴۸ نمونه‌هایی از گندم *T. boeoticum* subsp. *thaoudar*. باندهایی نسبتا مشخص و متمایز با تحرک الکتروفورزی بیشتر نسبت به زیرواحد x در نمونه‌هایی از گندم‌های مورد مطالعه مشاهده گردید.

Figure 1- Electrophoretic separation of seed storage glutenins in some Iranian *T. boeoticum* morphotypes. Y: yavaros; S: shahriar; Cs: chineese spring; 52: a *T. urartu* morphotype; 1, 16: certain morphotypes of *T. boeoticum* subsp. *boeoticum*; 11, 41, 22, 133, 152, 161, 187, 248: certain morphotypes of *T. boeoticum* subsp. *thaoudar*. A number of separate bands with more electrophoretic mobilities than x subunits were detected in the majority of studied morphotypes.

بررسی الگوی تفکیک الکتروفورزی زیرواحدهای گلوتنین HMW، مبین چند شکلی قابل ملاحظه در بین مورفوتیپ‌های مورد آزمایش بود. در محدوده مکان ژنی Glu-1A در مجموع ۸

www.SID.ir

Archive of SID

الگوی باندی با ۱۰ آلل و در محدوده مکان ژنی Glu-3A نیز ۲۵ الگوی باندی با ۱۳ آلل مشخص گردید. در بررسی هر دو منطقه باندی (HMW و LMW)، ۱۲ ترکیب آللی مختلف در ۲۱ مورفوتیپ *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و ۲۵ ترکیب آللی مختلف در ۵۳ مورفوتیپ *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* مشاهده گردید. فراوانی آل‌های مشاهده شده در هر دو محدوده HMW و LMW با استفاده از نرم افزار Power Marker محاسبه شد. در محدوده HMW آل‌های ۳، ٤، ٦ و ۹ در مورفوتیپ‌های *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و آلل ۷ در مورفوتیپ‌های *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. در محدوده LMW، آلل ٤١ در مورفوتیپ‌های هر دو زیرگونه مورد آزمایش، بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد.

بر اساس شاخص "محتوای اطلاعات چندشکلی" (PIC)، در محدوده HMW، آلل ۲ و در محدوده LMW، آلل ۲۹ و ۳۲ در هر دو زیرگونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* به عنوان چند شکل‌ترین آل‌ها معین گردیدند (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱- محتوای اطلاعات چندشکلی برای آل‌های موجود در مکان ژنی Glu-1A.

Table 1- Polymorphic information contents (PIC value) of alleles detected in Glu-1A Locus.

PIC/Marker	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
T. b. boeoticum	0.21	0.3	0.16	0.16	0.26	0.16	0.16	0.16	0.16	
T. b. thaoudar	0.22	0.24	0.07	0.16	0.22	0.16	0.1	0.13		0.13

جدول ۲: محتوای اطلاعات چند شکلی برای آل‌های موجود در مکان ژنی Glu-3A.

Table 2: Polymorphic information contents (PIC value) of alleles detected in Glu-3A Locus.

PIC/Marker	13	15	18	21	23	29	30	31	32	33	39	41
T. b. boeoticum	0.09	0.09	0.00	0.21	0.26	0.36	0.16	0.16	0.37	0.09	0.32	0.00
T. b. thaoudar	0.13	0.22	0.04	0.18	0.20	0.37	0.07	0.18	0.36	0.10	0.35	0.04

شاخص PIC معمولا برای نشانگرهای مولکولی DNA محاسبه می‌شود و نسبتی از میزان چند شکلی یک آلل در جمعیت مورد بررسی می‌باشد. شاخص PIC در مورد نشانگرهای DNA بدلیل تنوع بسیار گسترده‌تر آل‌ها در جمعیت‌های مورد بررسی، مقادیر بسیار بیشتری را نسبت به نشانگرهای پروتئین به خود اختصاص می‌دهد. مقادیر PIC کمتر از ۰/۵ برای نشانگرهای DNA به

www.SID.ir

Archive of SID

عنوان شاخص تنوع آللی در نظر گرفته نمی‌شود، اما با توجه به اینکه آلل‌های مشاهده شده در این مطالعه باندهای پروتئینی بوده‌اند و اینکه از لحاظ بیوشیمیایی تفاوت در جایگاه باندی این آلل‌ها به تعداد دومن‌های تکراری موجود در این پروتئین‌ها بر می‌گردد، همین مقادیر PIC بدست آمده اشاره به تفاوت عمده ژنتیکی در جمعیت مورد بررسی دارد.

ترکیب آللی گلوتنین‌های HMW و LMW در موروفوتیپ‌های گندم مورد آزمایش، به تفکیک منطقه محل جمع‌آوری مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین تعداد آلل در مکان ژنی Glu-1A در استان آذربایجان شرقی و در مکان ژنی Glu-3A در استان‌های آذربایجان غربی، کرمانشاه و کردستان مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- تعداد و نوع آلل‌های مشاهده شده در هر دو مکان ژنی Glu-1A و Glu-3A در مورفوتیپ‌های مورد آزمایش از گندم *T. boeoticum* ایران.

Table 3- Total numbers of alleles detected in both Glu-1A & Glu-3A loci in the studied samples of Iranian *T. boeoticum* morphotypes.

	Glu-1A										Glu-3A											
Allel Type	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	15	18	21	23	29	30	31	32	33	39	41	Sum
Azarbaijan sharghi		*	*	*	*	*	*	*			*	*		*	*	*	*	*	*		*	*	17
Azarbaijan gharbi	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			*	*	*			*	*		*	17
Fars	*	*			*		*	*		*	*			*	*	*			*	*	*	*	14
Ilam	*	*			*		*	*			*	*		*		*			*		*	*	12
Kermanshah	*	*			*		*	*		*	*	*		*	*	*		*	*		*	*	15
Kordestan	*	*			*		*	*		*	*	*		*	*	*			*	*	*	*	15
Lorestan	*	*	*	*	*	*	*	*			*	*		*		*	*	*	*		*	*	16
Zanjan	*	*			*		*	*			*			*	*	*			*			*	10
Unknow	*	*			*		*	*			*			*	*			*	*			*	10
Foreign	*		*	*	*	*	*	*			*		*	*		*		*			*	*	14

تعیین تنوع ژنتیکی مبتنی بر مکان‌های ژنی Glu-1A و Glu-3A و رابطه آن با پراکنش جغرافیایی در گونه‌های گندم دیپلوئید وحشی *T. monococcum* توسط پژوهشگران مختلف انجام شده است. در برخی از این مطالعات همبستگی بین توزیع آلل‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای و ارتفاع محل‌های جمع آوری و فاکتورهای محیطی در گندم‌های وحشی دیپلوئید و تتراپلوئید ثابت شده

www.SID.ir

Archive of SID

است (Lafiandra et al., 1993; Ciaffi et al., 1993; Caballero et al., 2008). با این حال، Bahraei (1996) پس از مطالعه تنوع ژنتیکی دو گونه دیپلوئید *T. boeoticum* و *T. urartu* بر اساس تنوع گلوتنین‌های HMW و LMW ابراز داشت که پراکنش آلل‌های این پروتئین‌ها رابطه‌ای با موقعیت جغرافیایی نمونه‌های جمع آوری شده نداشته است. این در حالی است که در این مطالعه در رابطه با برخی آلل‌ها می‌توان توزیع مشخص آنها را در منطقه غرب کشور احساس نمود. بررسی پراکنش جغرافیایی آلل‌های گلوتنین در محدوده HMW در مورفوتیپ‌های گندم وحشی *T. boeoticum* ایران، توزیع متمرکز برخی آلل‌ها را در مناطق جغرافیایی خاص نشان می‌دهد. آلل‌های ۲، ۵، ۷ و ۸ به صورت تقریبا یکنواخت در مناطق شمال غرب، غرب و جنوب غرب توزیع شده‌اند. آلل‌های ۳، ٤ و ٦ تنها در منطقه شمال غرب و غرب و همچنین نمونه‌های خارجی مشاهده می‌شوند. آلل ۹ نیز در منطقه شمال غرب مشاهده می‌شود. با توجه به فراوانی پائین سه آلل ۳، ٤ و ٦، پراکنش محدود آنها، و اینکه این آلل‌ها در نمونه‌های خارجی نیز مشاهده گردیده‌اند، احتمال جدیدتر بودن آلل‌های مذکور در ژرم پلاسم گندم وحشی ایران مطرح می‌شود. تجزیه زیرواحدهای گلوتنین LMW به دلیل تعداد زیاد آلل‌های کنترل کننده و همچنین نبود طبقه‌بندی و نام‌گذاری مورد توافق، بسیار مشکل تر از زیرواحدهای HMW می‌باشد. به همین علت مطالعات بسیار کمتری در رابطه با موقعیت زیرواحدهای LMW و تعیین میزان اثر هر کدام در خاصیت نانوائی آرد گندم گزارش شده است (Bekes et al., 2009). در محدوده گلوتنین‌های LMW آلل‌های ۱۳، ۲۱، ۲۹، ۳۲ و ٤۱ تقریبا بصورت یکنواخت در مناطق شمال غرب، غرب و جنوب غرب توزیع شده‌اند. آلل شماره ۱۸ تنها در نمونه‌های خارجی مشاهده گردید و آلل‌های ۱۵، ۲۳، ۳۰، ۳۲ و ۳۳ اصلا در نمونه‌های خارجی دیده نشدند.

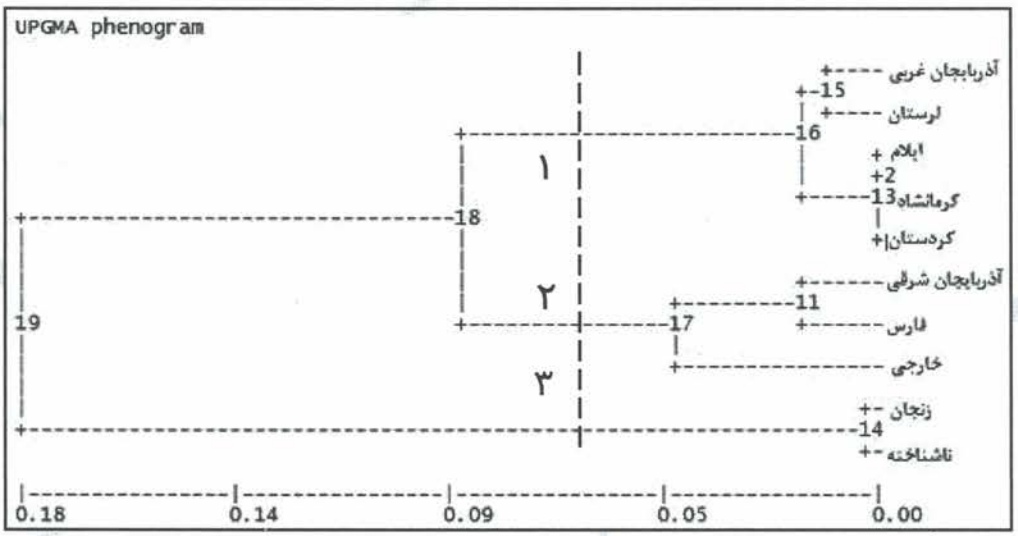
از لحاظ میزان هتروزیگوسیتی و نسبت مکان‌های ژنی متنوع (P) استان آذربایجان شرقی بالاترین میزان تنوع را به خود اختصاص داد. پس از بررسی جمعیت‌هایی از گونه‌های *T. boeoticum* و *T. urartu* از ایران و چند کشور خارجی (Bahraei, 1996)، چندشکلی بالایی در مکان ژنی Glu-1A مشاهده گردید که بلاترین میزان هتروزیگوسیتی مربوط به یک جمعیت *T. urartu* موجود در ایران به میزان ۰/٤۷ بود. در این مطالعه جمعیت *T. boeoticum* جمع‌آوری شده از آذربایجان شرقی از بالاترین هتروزیگوسیتی در هر دو مکان ژنی Glu-1A و Glu-3A به میزان ۰/۳ برخوردار گردید (جدول ٤).

در نقشه پراکنش جغرافیایی *T. monococcum* جهان، سه استان ایلام، لرستان و کرمانشاه با بیشترین تنوع گونه *T. boeoticum* به همراه گونه‌های تتراپلوئید *T. araraticum* و *T.*

www.SID.ir

Archive of SID

آذربایجان شرقی و فارس به همراه نمونه‌های خارجی در گروه دوم قرار گرفتند. نمونه‌های جمع - آوری شده از استان زنجان به همراه نمونه‌های با منشاء نامشخص در گروه سوم قرار گرفتند که احتمال این که نمونه‌های با منشا نامشخص، از استان زنجان و یا استان‌های مجاور آن جمع آوری شده باشند را تقویت می‌کند. پس از ترسیم نقشه دو بعدی، جمعیت‌های جمع‌آوری شده از استان‌های آذربایجان غربی، کردستان، ایلام، کرمانشاه و لرستان از نمونه‌های مربوط به سایر مناطق تفکیک شدند. بنابراین، مقیاس‌بندی دو بعدی نیز نتایج تجزیه خوشه‌ای را تا حدود زیادی تائید نمود (شکل ۳).



شکل ۲- دندروگرام تنوع ژنتیکی مورفوتیپ‌های *T. boeoticum* وحشی ایران به تفکیک منطقه جمع‌آوری بر اساس تنوع آللی در مکان‌های Glu-1A و Glu-3A.

Figure 2- Genetic diversity of Iranian wild *T. boeoticum* morphotypes collected from distinct areas according to the allelic variation in Glu-1A & Glu-3A loci.

قبلا نمونه‌های مورد آزمایش در این تحقیق به همراه نمونه‌هایی از گندم وحشی *T. urartu* مورد ارزیابی قرار گرفته بودند که علیرغم پراکنش وسیع جغرافیایی این گونه‌ها، از لحاظ صفات مورفولوژیکی تنوع بالایی مشاهده نشد که این مطلب در تقابل با وضعیت پراکنش وسیع این نمونه‌ها بود (Jaffar Aghaei, 2010). اما در مطالعه حاضر، فاصله ژنتیکی قابل توجهی بین نمونه‌های دارای منشاء جغرافیایی متفاوت مشاهده گردید. از آنجا که اصلاح نباتات و بخصوص فرایند انتخاب همواره در جهت باریکتر کردن پایه ژنتیکی گونه‌ها حرکت می‌کند، محققان به دنبل یافتن منابع ژنتیکی جدید برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی هستند. با توجه به میزان بالای تنوع مشاهده شده

www.SID.ir

Archive of SID

برای گونه *T. boeoticum* در ایران، کشورمان بطور بالقوه از گنجینه گران‌بهای ذخایر ژنتیکی برای این گونه برخوردار است و می‌تواند در برنامه‌های تحقیقات ملی و مبادلات جهانی سهمی مهم را داشته باشد. همچنین، هتروزیگوسیتی بالا، نسبت بالای مکان‌های ژنی متنوع و فاصله ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای که در دو استان آذربایجان غربی و شرقی وجود دارد بیانگر وجود پتانسیل زیاد برای مطالعه و جمع‌آوری نمونه‌های جدید وحشی و متنوع دیگر از این گونه در منطقه آذربایجان می‌باشد و همچنین می‌تواند به استراتژی مطالعات جمع آوری این گونه‌ها در بانک ژن کمک نماید.

سپاسگزاری

از پرسنل محترم بانک ژن ملی گیاهی ایران به خاطر همکاری در انجام آزمایشات قدردانی می‌گردد. بخشی از این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان به انجام رسید.

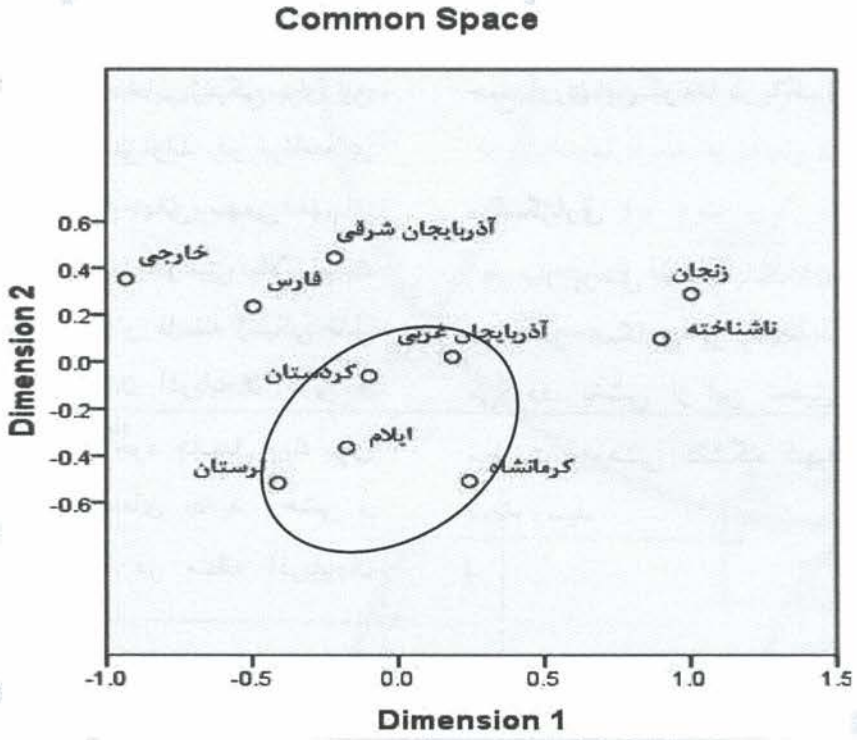
جدول ۵- ضرایب فاصله نی (۱۹۸۷) بین جمعیت‌های *T. boeoticum* جمع آوری شده از استان‌های مختلف ایران.

Table 5- Nei's Standard Distance (1987) between *T. boeoticum* morphotypes collected from different provinces of Iran.

	Azar ghrbi	Azar shargi	fars	Ilam	Kerman shah	Kordestan	Lorestan	Zanjan	Unknow
Azar shargi	0.11								
fars	0.18	0.07							
Ilam	0.03	0.11	0.05						
Kermanshah	0.07	0.27	0.27	0.01					
Kordestan	0.02	0.02	0.01	0.07	0.02				
Lorestan	0.02	0.18	0.16	0.05	0.05	0.01			
Zanjan	0.18	0.28	0.48	0.37	0.23	0.23	0.55		
Unknow	0.14	0.25	0.44	0.35	0.18	0.17	0.49	0.10	
Foreign	0.18	0.04	0.12	0.29	0.40	0.11	0.23	0.80	0.64

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- مقیاس بندی دو بعدی برای مورفوتیپ‌های ***T. boeoticum*** وحشی ایران به تفکیک منطقه جمع‌آوری بر اساس تنوع آللی در مکان ژنی **Glu-1A** و **Glu-3A**.

Figure 3- Two dimensional scaling for Iranian wild *T. boeoticum* morphotypes collected from distinct areas according to the allelic diversity in Glu-1A & Glu-3A loci.

منابع

Abdemishani S, Shahnejat-Boshehri A (1998). Advanced Plant Breeding. University of Tehran Press, Tehran, Iran.

Bahraei M (1996). Investigation of genetic diversity in wild diploid wheat species (*T. urartu*, *T. boeoticum*) with using seed storage protein electrophoresis. Seed and Plant Journal 12: 13 – 17.

Bekes F, Cavanagh CR, Wrigley CW, Martinov S, Bushuk W (2009). The Gluten Composition of Wheat Varieties and Genotypes. Retrieved May 10, 2010, from www.aaccnet.org/grainbin/pdfs/III_LMW_Subunits.pdf

Caballero L, Martin MA, Alvarez JB (2008). Genetic diversity for seed storage proteins in Lebanon and Turkey populations of wild diploid wheat (*Triticum urartu* Thum. ex Gandil). Genetic Resources and Crop Evolution 56(8): 1117- 1124.

Ciaffi M, Lanfiandra D, Poreceddu E, Benedettelli S (1993). Storage-Protein variation in wild emmer (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) from Jordan and Turkey. Theoretical and Applied Genetics 86: 518-5250.

Devoka T (2005). The Gluten, a big natural biopolymer: genetic determination and function. General & Applied Genetics 234: 123-131.

www.SID.ir

Archive of SID

Feldman M, Lupton FGH, Miller TE (1995). Wheats. In: Smartt J, Simmonds MW (Eds.) Evolution of Crop Plants. Longman Group Ltd, London, pp. 184-1920

Jaffar Aghaei M (2010). Diversity in Glu-1A locus and genomic DNA content in Iranian morphotypes of wild *Triticum monococcum*. M.Sc. Thesis. Shahid Bahonar University, Kerman, Iran.

Kimber G, Sears ER (1987). Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat. In: Heyne EG (Eds.), Wheat and Wheat Improvement. American Society of Agronomy, Madison, pp. 154-164.

Laemmli UK (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the T4 bacteriophage. Nature 227:680-685.

Lafiandra D, Ciaffi M, Benedettelli S (1993). Seed storage proteins of wild wheat progenitors, In: Damania AB, Jhon W, Sons E (Eds.) Biodiversity and wheat Improvement. ICARDA.

Lennart Johnson B, Waines G (1977). Use of wild-wheat resources. California Agriculture 31(9):8-9.

Mac Key J (1988). A plant breeder's perspective on taxonomy of cultivated plants. Biologisches Zentralblatt 107: 369-379.

Rodriguez Quijano M, Nieto Taladriz MT, Carrillo JM (1997). Variation in B-LMW glutenin subunits in Einkorn wheats. Genetic Resources and Crop Evolution 44: 539–543.

Shewry PR (2009). Wheat. Jornal of Experimental Botany 60: 1537-1553.

Zohary D, Hopf M (2000). Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley. Oxford University Press, USA.

www.SID.ir