Archive of SID

مجله علوم کشاورزی ایران
دوره ۱-۳۸، شماره ۲، ۱۳۸۶ (۳۳۵-۳۲۱)

بررسی تنوع ژنتیکی گندم های وحشی ایران *Triticum boeoticum* از طریق الکتروفورز پروتئین های ذخیره ای آندوسپرم

توحید صالحی[۱]، پریچهره احمدیان تهرانی[۲]، علی اکبر شاه نجات بوشهری[۳]،
سید محمد فخر طباطبایی[۴] و حمید رضا مبصر[۵]
۱، ۵، اعضای هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی- واحد قائم شهر،۲، ۳، ۴، استاد و استادیاران،
پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۳/۱۲/۲۷ - تاریخ تصویب: ۸۵/۱۲/۹)

چکیده

تنوع پروتئین های ذخیره ای بذر در چهار مکان ژنی *Gli-A1* bt ، *Gli-A2* bt ، *Glu-A1* bt و *Glu-A3* bt در جد دیپلوئید وحشی گندم *Triticum boeoticum* در ٤١٢ تک بذر نماینده ٣٦توده از غرب و شمال غرب ایران با استفاده از تکنیک های الکتروفورز اسیدی و الکتروفورز SDS شیب دار مورد بررسی قرارگرفت. میزان چند شکلی در *T. boeoticum* برای این مکان های ژنی به ترتیب زیر موجود بود: *Glu-A1* bt < *Glu-A3* bt < *Gli-A2* bt < *Gli-A1* bt ؛ بیش از ٣٦الگوی الکتروفورزی گلیادین در الکتروفورگرام گلیادین توده های مورد مطالعه مشاهده شد. هر الگو مرکب از ١٣تا ٣٠ باند گلیادین بود. از تجزیه ١٣بذر از هر توده، تنها ٧ توده یکنواخت بودند، درحالی که دیگر توده ها دو یا تعداد بیشتری الگوی الکتروفورزی نشان دادند. در هیچ یک از مکان های ژنی Gli-A1 bt و Gli-A2 bt، الل نول مشاهده نشد. میزان بالایی از تنوع اللی در مکان ژنی Glu-A1 bt در توده‌های مورد مطالعه یافت شد و بعضی زیر واحدهای جدید در زیر واحدهای گلوتنین هم نوع x و هم نوع y، شامل اشکال نول نوع x و نوع y، مشاهده شد. ژن های رمز گردان برای زیر واحد های 1AX و 1Ay میزان عدم فعالیت خیلی پائینی (٣٪) نشان دادند. بسیاری از توده ها ٣ تا ٤ باند در ناحیه زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا نشان دادند. در کل، ١٣ الگوی باندی متفاوت زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا مشاهده شد. چندشکلی زیادی از نظر تعداد باند، شدت رنگ پذیری و تحرک الکتروفورزی در زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین توده های موردمطالعه *T. boeoticum* آشکار شد. سی وشش الگوی متفاوت برای زیر واحدهای B وC تشخیص داده شد. اطلاعات بدست آمده پیشنهاد می کند که توده های مورد مطالعه *T. boeoticum* منبع غنی از تنوع جدید برای زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین را که تصور می شود در تنظیم خصوصیات فر آوری آرد گندم خیلی مهم باشند، نشان می دهند. این نتایج دانش پایه ای جدیدی را در رابطه با تنوع ژنتیکی پروتئین های ذخیره ای بذر و پتانسیل آنها جهت خلق ژرم پلاسمی جدید برای بهبود کیفیت گندم در برنامه های اصلاحی فراهم می نماید.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز اسیدی، الکتروفورز SDS شیب دار، *Triticum boeoticum*، ژنوم A، زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پائین، گلیادین.

* نویسنده مسئول: توحیدصالحی تلفن: ۰۹۳۵-۳۸۲۵۲۶۳ E-mail:tdsalehi@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پروتئین‌های آندوسپرم گندم بطور عمده مرکب از دو گروه پروتئین ذخیره‌ای به نام گلیادین[1] و گلوتنین[2] هستند که همچنین بر اساس حلالیت‌شان در حلال‌های مختلف تقسیم بندی می‌شوند. این دو گروه پروتئین ذخیره‌ای در مقادیر تقریباً برابر در آندوسپرم وجود دارند. جنبه‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی این پروتئین‌ها به دلیل اهمیت آنها در تعیین خصوصیات تغذیه‌ای و تکنولوژیکی گندم و فرآورده‌های آن در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (۷).

گلیادین‌ها بوسیله ژن‌های مکان یابی شده بر روی بازوی کوتاه کروموزوم‌های متعلق به گروه همیولوگی[3] ۱ و ۶ کنترل می‌شوند و مکان‌های ژنی آنها *Gli-1* (کروموزوم‌های گروه ۱) و *Gli-2* (کروموزوم‌های گروه ۶) نامیده می‌شوند. گلوتنین‌ها بوسیله زیر واحدهای با وزن مولکولی بالا[4] یا زیر واحدهای A که بوسیله مکان‌های ژنی *Glu-1* مکان‌یابی شده بر روی بازوی بلند کروموزوم‌های گروه ۱رمز می‌شوند و زیر واحدهای با وزن مولکولی پائین[5] که بر اساس تحرک‌شان در الکتروفورز SDS[6] و نقطه ایزوالکتریک نسبی‌شان به سه ناحیه B، C و D تقسیم بندی می‌شوند، نشان داده می‌شوند (۱۱). زیر واحدهای B و C گلوتنین با وزن مولکولی پائین بوسیله مکان‌های ژنی *Glu-3* کد می‌شوند و روی بازوی کوتاه گروه ۱کروموزوم‌های همیولوگ مکان‌یابی می‌شوند و با مکان‌های مرکب *Gli-1* پیوسته هستند (۲۹). هر کدام از این نُه مکان ژنی تنوع اللی را نشان می‌دهند که تا حدودی مسئول تفاوت‌های مشاهده شده در خصوصیات تکنولوژیکی گندم می‌باشد. به طور دقیق‌تر، تنوع اللی در زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا به مقدار زیادی مسئول تفاوت های کیفیت در گندم نان است (۲۴)، در صورتی که تنوع در الل‌های زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین در مکان ژنی *Glu-B3* اساسا در تعیین خصوصیات پاستا یا خمیر شیرینی پخته شده مؤثر می باشد (۲۵).

منابع امید بخش ژن‌های رمز کننده پروتئین‌های جدید بوسیله خویشاوندان دیپلوئید و تتراپلوئید گندم نشان داده می‌شوند (۱۳). متاکوفسکی و سوزینف (۱۹۸۷) نشان دادند که خانواده ژن‌های کنترل کننده پروتئین ذخیره‌ای بذر یعنی گلیادین‌ها که دارای چند شکلی بالایی هستند، نشانگرهای ژنتیکی بسیار سودمندی می‌باشند (۱۹). متاکوفسکی و همکاران (۱۹۹۲) چند شکلی الل‌های گلیادین را در یک مجموعه ۶۰ توده‌ای *T. boeoticum* با استفاده از الکتروفورز اسیدی[7] مورد بررسی قرار دادند و بیش از ۵۰ الگوی الکتروفورزی را تشخیص دادند. آنالیز بذور F_2 دو تلاقی درون گونه‌ای، دو مکان ژنی ناپیوسته رمز کننده گلیادین (*Gli-A1*^{bt} و *Gli-A2*^{bt}) را در هر ژنوتیپ آشکار ساخت (۱۸).

سیافی و همکاران (۱۹۹۲) جامع‌ترین مطالعه را بر روی ۵۴۵ توده گندم‌های دیپلوئید وحشی دارای ژنوم A انجام دادند. این گندم‌ها ۲۲ الل را در مکان ژنی *Glu-A1* نشان دادند (۹ الل در *T. urartu* و ۱۳ الل در *T. boeoticum*). زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا بیشتر توده‌های *T. boeoticum* یک زیر واحد اصلی با تحرک کند (زیر واحد x) و مجموعه‌ای از باندهای زیر واحدهای کمتر معمول با تحرک سریع‌تر همراه با یک باند غالب پر رنگ (زیر واحد y) را نشان دادند. وینز و پاین (۱۹۸۷) ترکیب زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا را در ۴۹۷ گندم دیپلوئید و۸۵۱ توده بومی گندم نان با استفاده از تکنیک SDS-PAGE مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. آنها مشاهده کردند که الگوی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در *T.urartu* با الگوی موجود در *T. boeoticum* کاملاً متفاوت است، به طوری که توده‌های *T. urartu* یک زیر واحد اصلی 1Ax و یک زیر واحد فرعی 1Ay نشان می‌دادند. هیچ توده‌ای تعدد زیر واحدهای فرعی1Ay که مشخصه*T. boeoticum* است را نشان نداد.

1 . Gliadin
2 . Glutenin
3 . Homeologous groups
4 . High-molecular-weight (HMW) subunits
5 . Low-molecular-weight (LMW) subunits
6 . Sodium dodecyl sulfate (SDS)- PAGE
7. Acid-PAGE

www.SID.ir

Archive of SID

گزارش شده است که بعضی از ژن‌های *Glu-1* در گونه‌های وحشی مختلف *Triticum* غیر فعال باشند (۵). زیر واحدهای 1Ax ممکن است میزان متفاوتی از بیان را که بوسیله شدت رنگ آمیزی‌های متفاوت استنباط می‌شود، نشان دهند (۲). تنوع وسیعی در تعداد و تحرک الکتروفورزی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین در گونه‌های مختلف *Triticum* مشاهده شده است (۲). رودریگز- کوایجانو و همکاران (۱۹۹۷) تنوع زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین نوع B[1] را در گندم‌های اینکورن[2] مطالعه کردند. لی و همکاران (۱۹۹۹) تنوع در سطح پروتئین و DNA زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین را در گندم‌های دیپلوئید با ژنوم A مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند (۱۵).

جیانیبلی و همکاران (۲۰۰۱) مجموعه بزرگی از توده‌های جد وحشی گندم *T. tauschii* (دهنده ژنوم D به گندم نان) را برای تنوع زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا به وسیله روش‌های الکتروفورزی و کزوماتوگرافی مورد ارزیابی قرار دادند. میزان تنوع اللی زیادی در مکان ژنی *Glu-D1*^{bt} در این مجموعه یافت شد و بعضی از زیر واحدهای جدید در زیر واحدهای گلوتنین نوع x و نوع y از جمله اشکال نول نوع x یا y مشاهده گردید. چندین توده نیز سه باند در ناحیه زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا نشان دادند. ترن کویلی و همکاران (۲۰۰۲) اثرات مکان‌های ژنی گلوتنین *T. monococcum* روی کیفیت پخت کلوچه و آزمایش‌های پیش بینی کننده برای کیفیت پخت نان را در لاین‌های جایگزین نوترکیب[3] بین کروموزوم 1A^{m} از *T. monococcum* و کروموزوم 1A از رقم چینی بهاره ارزیابی نمودند. نتایج بدست آمده نشان داد که گندم دیپلوئید *T. monococcum* یک منبع ارزشمند برای تنوع اللی جدید برای مکان‌های ژنی رمز کننده پروتئین‌های ذخیره‌ای و صفات کیفی جدید می‌تواند باشد. جیانیبلی و سولمون (۲۰۰۳) یک توده از مجموعه *T. tauschii* که در آنالیز ترکیبات زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پائین درSDS-PAGE یک زیر واحد با تحرک الکتروفورزی غیرمعمول نشان داده بود را با روش کروماتوگرافی مایع فاز معکوس، تجزیه توالی‌یابی پایانه آمینه و شناسائی مولکولی ژن رمزکننده آن مورد تجزیه و تحلیل بیشتر قرار دادند. نتایج بدست آمده نشان داد که حذف شدن‌های بلوک‌های آرایه‌های تکراری که احتمالا به وسیله کراسینگ اوور نابرابر ایجاد شده است، ممکن است منجر به آن زیر واحد گلوتنین با وزن مولکولی بالا نوعy کوچک ویژه شده باشد.

روش‌های اصلاحی پیشرفته باعث فرسایش تنوع ژنتیکی گندم‌های پلی پلوئید زراعی شده‌اند (۲۶). یکی از نشانه‌های این فرسایش یکنواختی ژنوتیپ‌های ارقام گندم گسترش یافته در ناحیه‌ای از یک کشور خاص است، همان طوری که بوسیله ترکیب پروتئین‌های ذخیره‌ای نشان داده شد. این امر ممکن است به کاهش راندمان اصلاح و حساس شدن ارقام جدید به پاتوژن‌ها منتهی گردد (۲۰). گندم‌های دیپلوئید از جمله گندم دیپلوئید وحشی *T. boeoticum* به عنوان منابع احتمالی صفات متنوعی برای گندم‌های زراعی پلی پلوئید شناخته می‌شوند (۳، ۳۲).

هدف از این تحقیق، بررسی چندشکلی[4] پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در چهار مکان ژنی *Gli-A1*^{bt}، *Gli-A2*^{bt}، *Glu-A1*^{bt} و *Glu-A3*^{bt} در توده‌های مختلف *T. boeoticum* ایران به وسیله تکنیک الکتروفورز و طبقه‌بندی آنها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۳۶ توده از رویشگاه‌های گندم دیپلوئید خودرو سرده گندم *T. boeoticum* که بطور پراکنده در غرب و شمال غرب ایران قرار دارند، انتخاب شدند (جدول ۱). عملیات نمونه‌برداری و جمع‌آوری بذر از رویشگاه‌های توده‌های مورد نظر در خرداد ماه سال ۱۳۸۱ انجام شد.

1 . B-type
2 . Einkorn
3 . Recombinant substitution lines
4. Polymorphism

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- فهرست محور جمع‌آوری و ارتفاع محل جمع‌آوری توده‌های مورد بررسی *T. boeoticum* از رویشگاههای طبیعی در غرب و شمال غرب کشور.

شماره جمعیت	محور جمع آوری	ارتفاع محل جمع‌آوری(متر)
pA (۲۰)*	قره چمن - هشترود	۱۵۸۰
pB (۲۱)	هشترود - مراغه	۱۶۵۰
pC (۲۲)	دلفان- نهاوند	۱۸۲۰
pD (۲۳)	صحنه - کنگاور	۱۴۸۰
pE (۹)	سنقر - کامیاران	۱۶۲۰
pF (۱۱)	کوثر- میانه	۱۳۷۰
p۱ (۱۹)	زیدشت طالقان	۱۷۰۰
p۸ (۱۵)	شهرک طالقان	۱۷۷۵
p۹ (۱۲)	زرآباد الموت	۱۷۵۰
p۱۰ (۱۸)	معلم کلایه الموت	۱۶۵۰
p۱۸ (۱۳)	خلخال - کوثر	۱۳۵۰
p۱۹ (۱۶)	کوثر - هله آباد	۱۴۵۰
p۲۰ (۲۴)	هله آباد - اردبیل	۱۷۰۰
p۲۶ (۷)	اهر - تبریز	۱۵۵۰
p۲۹ (۸)	هوراند - اهر	۱۲۰۰
p۳۶ (۶)	بوکان - مهاباد	۱۲۷۰
p۶۲ (۳۶)	سقز - قشلاق	۱۵۵۰
p۶۴ (۲۷)	قشلاق - چناره	۱۵۰۰
p۶۶ (۳۵)	چناره - مریوان	۱۴۰۰
p۶۷ (۳۴)	مریوان - بانه	۱۳۰۰
p۶۸ (۲۵)	مریوان - سنندج	۱۵۰۰
p۷۶ (۳۰)	مهرگان - کرمانشاه	۱۲۵۰
p۷۷ (۳۱)	سنقر - بیستون	۱۶۵۰
p۸۴ (۲۶)	کرمانشاه - هرسین	۱۵۰۰
p۸۵ (۳۲)	هرسین - دلفان	۱۸۵۰
p۸۶ (۱)	دلفان - الشتر	۱۸۰۰
p۸۷ (۲)	الشتر- خرم آباد	۱۵۵۰
p۸۹(۳۳)	خرم آباد - بروجرد	۱۷۰۰
p۹۲ (۲۸)	درود - الیگودرز	۱۶۰۰
p۹۳ (۱۴)	اردل - شهرکرد	۱۷۸۰
p۹۴ (۱۷)	یاسوج - نرگا	۱۷۰۰
p۹۵ (۱۰)	نرگا- ممسنی	۱۷۰۰
p۹۷ (۳)	مارگون - میمند	۲۰۰۰
p۹۸ (۲۹)	میمند - بندگان	۱۶۵۰
p۹۹ (۴)	بندگان - سمیرم	۱۶۵۰
p۱۰۰ (۵)	سمیرم - ابواسحاق	۲۱۲۰

* شماره اختصاص داده شده به توده در آنالیزهای آماری

به منظور بررسی یکنواختی[1] هر توده، پنج بذر (از هر خوشه یک بذر) از هر توده بطور تصادفی انتخاب شد و نصف هر بذر برای استخراج جداگانه پروتئین‌های گلیادین مورد استفاده قرار گرفت. نیمه دیگر بذر برای استخراج پروتئین‌های گلوتنین جداگانه کنار نگهداشته شد. هنگامی که بیش از یک الگوی گلیادین در میان نمونه‌های مجزا مشاهده شد، هشت بذر دیگر از هر توده مورد ارزیابی بیشتر قرار گرفت. سپس در میان این ۱۳الگوی باندی گلیادین، نصف بذر جداگانه کنار نگهداشته شده یکی از بذور دارای الگوی باندی گلیادین غالب جهت استخراج گلوتنین‌ها مورد استفاده قرار گرفت (۱۵). برای بررسی الگوهای الکتروفورزی گلیادین توده‌ها از الکتروفورز اسیدی و ژل ۷٪ اکریل آمید[2] و ۰/۳٪ کراس لینکر (بیس اکریل آمید)[3] در ابعاد ۱×۱۲۰×۱۸۰میلی‌متر طبق روش لافیاندرا و کاساردا (۱۹۸۵) با این تغییر که در به جریان انداختن[4] اصلی از ولتاژ ثابت ۳۵۰ولت استفاده شد و شدت جریان به عنوان عامل ثابت در نظر گرفته نشد. بر اساس روش پیشنهادی ساپیراستین و بوشوک (۱۹۸۵) از باندهای مرجع R_{24} ، R_{50}و R_{79} الکتروفورگرام گلیادین رقم مارکوئیس[5] جهت محاسبه تحرک نسبی[6] باندها استفاده شد. در ضمن، در تمام چاهک‌ها به میزان برابر (۱۵میکرولیتر) محلول استخراج تزریق شد.

جهت بررسی چندشکلی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پائین از روش استخراج متوالی[7] ارائه شده توسط مارچیلو و همکاران (۱۹۸۹) که سینگ و همکاران (۱۹۹۱) و شهریاری و همکاران (۱۹۹۶) آن را اصلاح کردند و در سیستم الکتروفورزی SDS شیب دار یک بعدی تک مرحله‌ای[8] انجام شد استفاده گردید. جهت تفکیک بهتر

1 . Homogenicity
2 . Acrilamide
3 . Cross-Linker (bis-acrilamide)
4 . Running
5 . Maquis
6 . Relative mobility
7 . Sequentional extraction
8 . One-step one-dimensional gradient SDS-PAGE

www.SID.ir

Archive of SID

زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین از ژل با شیب غلظت ۱۲/۵-۸/۱ درصد اکریل آمید با کراس لینکر (بیس اکریل آمید) ۱٪ در ابعاد ۱×۱۲۰×۱۸۰ میلی‌متر استفاده شد(۱، ۱۷، ۳۰).

در هر ژل الکتروفورگرام گلوتنین رقم چینی بهاره[1] جهت نمره دهی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پائین استفاده شد. بدین منظور از الل a زیر واحدهای B مکان ژنی *Glu-D3* رقم گندم نان چینی بهاره به عنوان باند مرجع جهت محاسبه تحرک نسبی باندهای الگوهای باندی گلوتنین توده‌های مورد مطالعه استفاده شد. در ضمن، در تمام چاهک‌ها به میزان برابر (۱۵میکرولیتر) محلول استخراج تزریق شد.

پس از جمع آوری داده‌ها، به منظور تجزیه داده‌ها ماتریس تشابه صفر و یک تشکیل گردید. تشابه بین افراد با دو روش دایس[2] و جاکارد[3] با استفاده از گزینه Similarity، تجزیه خوشه‌ای[4] بر اساس UPGMA[5] با استفاده از گزینه Cluster، میزان همبستگی بین ماتریس‌های تشابه حاصل از داده‌های گلیادین‌ها (دو مکان ژنی *Gli-A1*^{bt} و *Gli-A2* ^{bt}) و گلوتنین‌ها (دو مکان ژنی *Glu-A1*^{bt} و *Glu-A3* ^{bt}) با یکدیگر و همچنین به طور مجزا (ماتریس‌های حاصل از هر دو روش دایس و جاکارد) با استفاده از آزمون مانتل و نیکویی برازش[6] خوشه‌بندی با ماتریس تشابه (ضریب کوفنتیک[7]) با استفاده از گزینه SimQual نرم افزار آماری NTSYS-pc (ویرایش ۲/۰۲) انجام شد. در تعیین همبستگی بین ماتریس‌ها با استفاده از آزمون مانتل سه نوع همبستگی مدنظر بود: الف) همبستگی بین ماتریس‌های تشابه و کوفنتیک، ب) همبستگی بین ماتریس‌های مبتنی بر ضرایب تشابه دایس و جاکارد برای هر یک از چهار مکان ژنی و همچنین ادغام داده‌های مربوط به ترکیب این دو مکان ژنی و ج) تعیین همبستگی بین داده‌های گلیادین‌ها، گلوتنین‌ها و مکان‌های ژنی رمزگردان آنها با استفاده از ماتریس‌های تشابه. همبستگی اول به این دلیل اندازه گیری شد تا میزان دقت روش خوشه‌بندی مشخص گردد. همبستگی دوم نیز برای تعیین تفاوت بین معیارهای اندازه‌گیری تشابه (دایس و جاکارد) صرف نظر از روش خوشه‌بندی، اندازه گیری شد. همبستگی سوم نیز به این دلیل مهم بود که مشخص شود چه نوع همبستگی بین داده‌های (صفر و یک) حاصل از ترکیب گلیادین‌ها و داده‌های حاصل از ترکیب گلوتنین‌ها و همچنین مکان‌های ژنی رمزگردان آنها وجود دارد.

1 . Chinese Spring
2 . Dice
3 . Jaccard
4 . Cluster analysis
5. Unweighted Paired Group Method using Arithmetic Average
6. Goodness of fit
7. Cophenetic coeffition

نتایج

نتایج بدست آمده از الکتروفورز اسیدی نشان داد که حداکثر تشابه میان توده‌ها در مکان‌های ژنی *Gli-A1*^{bt} و *Gli-A2* ^{bt} به ترتیب برابر با ۰/۷۳۷ و ۰/۶۶۷است. پس چنین می‌توان نتیجه گرفت که هر توده به طور واضح و مشخصی به وسیله یک بلوک گلیادین ویژه در هر یک از این دو مکان ژنی شناسایی می‌شود. در ضمن، حداقل میزان تشابه میان توده‌ها در هر دو مکان ژنی رمزکننده گلیادین‌ها نیز برابر با عدد صفر بود. به این معنی که دو توده مورد نظر در هیچ یک از باندهای الکتروفورگرام گلیادین‌شان به ترتیب در ناحیه‌های امگا یا گاما و آلفا یا بتا به هم شبیه نبوده‌اند. در هیچ یک از توده‌های مورد بررسی، الل نول در بلوک‌های ژنی *Gli-A1*^{bt} (عدم وجود باندهای امگا و گاما گلیادین) یا در بلوک‌های ژنی *Gli-A2*^{bt} (عدم وجود باندهای بتا و آلفا گلیادین) مشاهده نشد. در کل، ۳۶ بلوک و به ترتیب ۲۱۹ و ۲۱۷ باند با تحرک‌های نسبی متفاوت در مکان‌های ژنی *Gli-A1*^{bt} و *Gli-A2*^{bt} تشخیص داده شد. اختلاف در شدت رنگ پذیری باندهای با تحرک نسبی یکسان در هر چهار ناحیه الگوی باندی گلیادین بذور مربوط به یک توده و یا توده‌های مختلف مشاهده گردید (با توجه به میزان تزریق یکسان محلول استخراج در تمام چاهک‌ها)، ولی به علت وجود میزان خطای چشمی بالا در نمره دهی باندها بر

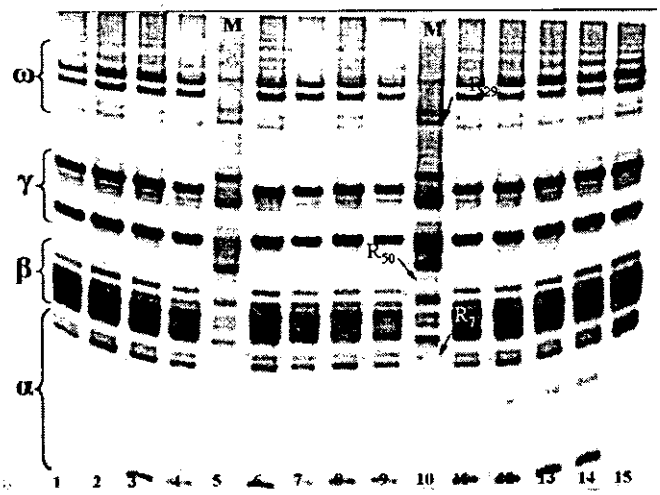
www.SID.ir

Archive of SID

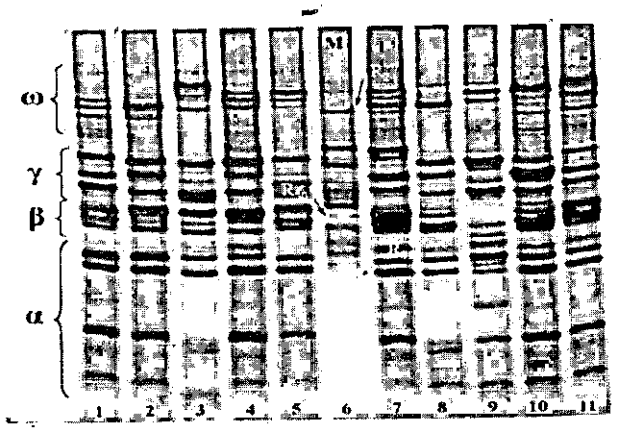
اساس شدت رنگ‌پذیری[1] از این کار صرف نظر شد. در ضمن، با تکرار انجام آزمایش این اختلاف در شدت رنگ‌پذیری مجدداً مشاهده گردید. در مجموع، آلفا گلیادین‌ها از شدت رنگ پذیری کمتری نسبت به سایر اجزای گلیادین برخوردار بودند. همپوشانی جزئی میان گروه‌های *Gli-A1*^{bt} و *Gli-A2* ^{bt} مثلاً در ناحیه گاما (باندهای دارای سریع ترین تحرک) و ناحیه بتا (باندهای دارای کندترین تحرک) مشکلاتی را در طبقه بندی این گروه‌ها بوجود آورد. چند شکلی الل‌های گلیادین توده‌های مورد مطالعه نشان داد که بلوک‌های *Gli-A1*^{bt} دارای تعداد باندهای بیشتر و تشابه بیشتری نسبت به بلوک‌های *Gli-A2* ^{bt} می‌باشند.

با در نظر گرفتن باندهای موجود در هر چهار ناحیه اُمگا، گاما، بتا و آلفا گلیادین جهت نمره‌دهی الگوی باندی گلیادین‌ها، حداکثر و حداقل میزان تشابه میان توده‌ها به ترتیب برابر با ۱/۰ و صفر بود. در کل ۴۳۶ باند با تحرک‌های نسبی متفاوت و ۳۶ الگوی باندی گلیادین در الکتروفورز اسیدی توده‌های مورد مطالعه بدست آمد. هر الگوی باندی گلیادین مرکب از ۱۳ تا ۳۰ باند گلیادین بود. اختصاصی بودن الگوی باندی گلیادین‌ها در هر توده، سودمندی آنها را به عنوان نشانگر ژنتیکی معتبر و قابل اطمینان برای شناسایی واریته‌های گندم هگزاپلوئید تأیید می‌نماید (۳۵).

در آزمایشی که بطور جداگانه روی نمونه‌های چندین توده انجام شد مشاهده گردید که الگوی باندی غالب هر توده با افزایش تعداد نمونه‌های بذری از ده بذر به بالا تغییر نمی‌کند و بنابراین امر ترجیحاً در مورد توده‌های هتروژن در سطح پنج نمونه بذری، در مجموع، ۱۳نمونه مورد بررسی قرار گرفت. در میان ۳۶ توده مورد بررسی، ۷ توده الگوی باندی گلیادین یکسان و ۲۹توده الگوی باندی گلیادین غیریکسان در میان بذور انتخابی نشان دادند. توده‌های غیریکنواخت[2] دو یا سه الگوی باندی متفاوت در میان پنج بذر انتخاب شده نشان دادند (شکل‌های ۱و۲). اگر چه میزان چند شکلی برای این مکان‌های ژنی کاملاً بالا بود، تنها تعداد معدودی از اشکال واریانت در هر دو مکان ژنی بطور نزدیکی با واریانت‌های مشابه‌شان[3] در ژنوم A گندم هگزاپلوئید تطابق داشتند (شکل ۳). عدم یکسانی بعضی از توده‌های بررسی شده ممکن است از منابعی متنوعی همچون دگر گرده افشانی طبیعی، مخلوط شدن بذور در طی جابجایی و یا تجمع جهش‌ها در مکان‌های ژنی رمز گردان پروتئین‌ها حاصل شده باشد (۱۵).



شکل ۱- یکنواختی الگوهای باندی گلیادین در توده p۸۹ به همراه رقم هگزاپلوئید کانادایی مارکوئیس که در چاهک‌های ۵ و۱۰ به عنوان شاهد تزریق شده است.

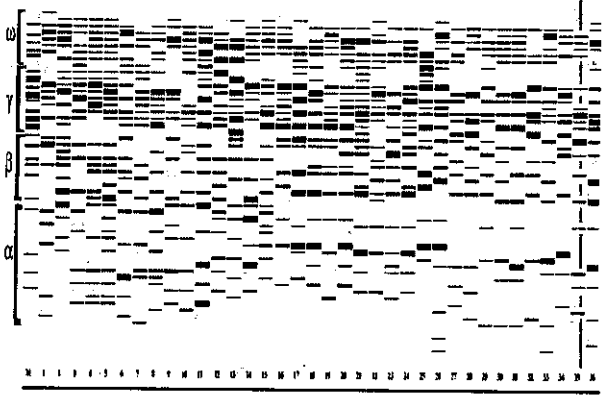


شکل ۲- تنوع الگوهای باندی گلیادین به ترتیب شماره از ۱ تا ۵ در توده‌های p۹۴، p۶۸، p۱ و p۱۰ و به ترتیب شماره از ۷ تا ۱۱ در توده‌های p۲۰، pD، pC، pB و pA به همراه رقم هگزاپلوئید کانادایی مارکوئیس که در چاهک‌های شماره ۶ به عنوان شاهد تزریق شده است.

1 . Staining density
2 . Heterogenous
3 . Analogous variants

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- نمایش شماتیک الگوهای باندی گلیادین توده های مورد مطالعه *T. boeoticum* به همراه الگوی باندی رقم مارکوئیس.

در الکتروفورز SDS شیب دار یک بُعدی تک مرحله ای ۱۳نوع از ترکیبات زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (*Glu-A1^{bt}*) در توده‌های مورد مطالعه تشخیص داده شد. تعداد زیر واحدها در توده‌های مختلف متفاوت بود. بدین ترتیب که یک توده دارای الل نول در هر دو زیر واحد x وy، ۷ توده دارای دو زیر واحد، ۱۰توده دارای سه زیر واحد و ۱۸ توده دارای چهار زیر واحد گلوتنین با وزن مولکولی بالا بود. در کل، ۳۱ باند با تحرک‌های نسبی متفاوت در ناحیه زیر واحدهای A گلوتنین‌ها مشاهده شد. زیر واحدهای A گلوتنین اکثر توده‌های مورد بررسی یک زیر واحد اصلی با تحرک کم (زیر واحد x) و یک سری باندهای زیر واحد کمتر معمول با تحرک سریع تر همراه با یک باند غالب دارای شدت رنگ پذیری بیشتر (زیر واحد y) را نشان دادند. ولی در بعضی از توده‌ها تنها دو زیر واحد به خوبی قابل تشخیص مشاهده شد. در این مورد تحرک پائین‌ترین زیر واحد y میان دامنه تحرک زیر واحدهای 1 Bx و 1 By گندم‌های زراعی قرار داشت. هیچ توده‌ای دارای تنها یک جز اصلی منفرد نبود. یعنی میزان عدم فعالیت ژن‌های رمز کننده زیر واحدهای y همانند زیر واحدهای x بسیار پائین است که این امر برخلاف فراوانی بالای عدم فعالیت ژن‌های رمز کننده زیر واحدهای y در گندم‌های نان و دوروم است.

محدوده تغییرات تحرک‌های الکتروفورزی زیر واحدهای x درمیان توده‌های مورد بررسی بطور بارزی کمتر از زیر واحدهای y غالب بود که این امر مشابه با زیر واحدهای 1 Ax و 1 Dx گندم نان است. زیر واحدهای y معمولا دارای تحرک‌هایی حدواسط میان محدوده تحرک زیر واحدهای 1 Bx و 1 Dy بودند. با توجه به میزان تزریق یکسان نمونه‌های استخراج پروتئینی در تمام چاهک‌ها زیر واحدهای x و یا y با تحرک نسبی یکسان در توده‌های مختلف میزان متفاوتی از بیان را نشان دادند که این امر از شدت رنگ آمیزی‌های متفاوت نسبت به شدت رنگ باندها در نمونه پروتئینی گندم نان رقم چینی بهاره استنباط شد. برخلاف فراوانی بسیار بالای عدم فعالیت آلل‌های مکان ژنی *Glu-A1* در گندم‌های نان و دوروم، ژن‌های رمزکننده زیر واحدهای x وy تقریبا تنها ۳٪ عدم فعالیت نشان دادند (تنها یکی از توده‌ها برای زیر واحدهای x و y الل نول نشان داد).

در مورد یکی از توده‌ها تفاوت در زیر واحدهای *Glu-A1^{bt}* و زیر واحدهای C مکان ژنی *Glu-A3^{bt}* در الگوی باندی گلوتنین دو نمونه که دارای الگوی باندی گلیادین یکسانی بودند مشاهده شد. زیر واحدهای B مکان ژنی *Glu-A3 ^{bt}* این دو نمونه با هم تفاوتی نداشت (شکل۴). در مورد یکی دیگر از توده‌ها تفاوت در زیر واحدهایB مکان ژنی *Glu-A3 ^{bt}* نمونه‌هایی که دارای الگوی باندی گلیادین یکسانی بودند مشاهده شد. زیر واحدهای*Glu-A1^{bt}* و زیرواحدهای C مکان ژنی *Glu-A3 ^{bt}* این نمونه‌ها با هم تفاوتی نداشت (شکل ۵). در آزمایش دیگری الگوی باندی گلوتنین‌های ۱۴ بذر از یک خوشه یکی از توده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه جالب توجه عدم مشابهت زیر واحدهای*Glu-A1^{bt}* و *Glu-A3 ^{bt}* یکی از بذرها با سایرین بود (شکل ۶). محتمل‌ترین عامل این تنوع بایستی دگرگشنی باشد. با محاسبه درصد دگرگشنی عدد تقریبی ۷درصد بدست آمد (وجود یک نمونه بذری هتروژن در میان ۱۴نمونه بذری بررسی شده) که این عدد بسیار بزرگتر از میزان دگرگشنی ارقام زراعی پلی پلوئید خودگشن می‌باشد. این درصد بالای دگرگشنی، وجود مکانیسمی طبیعی جهت افزایش تنوع ژنتیکی و افزایش سازگاری اجداد وحشی گندم‌های زراعی را نشان می‌دهد (۱۸).

www.SID.ir

Archive of SID

در آزمایش مجزایی، نمونه پروتئینی یکی از توده‌ها بدون احیاء قبلی با ۲- مرکاپتواتانول[1] بوسیله تکنیک الکتروفورز SDS شیب‌دار تفکیک شد. زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پائین در الگوی باندی گلوتنین توده مورد نظر مشاهده نشد. علت احتمالی این امر به این دلیل می‌باشد که توده‌های پروتئینی بزرگی که بوسیله پیوندهای دی سولفیدی[2] به هم پیوسته‌اند نمی‌توانند به درون منافذ ژل پلی اکریل آمید نفوذ کنند. این خصوصیات مخصوص پروتئین‌های گلوتنین گندم نان هستند و از این مشاهده چنین فرض می‌شود که زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در *T. boeoticum* معادل زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در گندم‌های نان هستند (۲).

در مجموع ۹۲ باند با تحرک‌های نسبی متفاوت در ناحیه‌های B و C گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین توده‌های مورد مطالعه یافت شد. تحرک نسبی همه زیر واحدهای B وC گلوتنین مورد بررسی قرار گرفت. همه توده‌ها الگوی باندی متفاوت و ویژه توده‌ای[3] را در این دو ناحیه نشان دادند. حداکثر میزان تشابه میان توده‌ها برابر با ۰/۸۴۲ و حداقل میزان تشابه برابر با صفر بدست آمد. بسیاری از توده‌های مورد مطالعه تقسیم بندی مشخصی را میان زیر واحدهای B و C گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین نشان ندادند که این امر برخلاف گندم‌های هگزاپلوئید می‌باشد که فاصله مشخصی میان این گروه‌ها نشان می‌دهند. تعداد باندهای زیر واحدهای B مشاهده شده توده‌های مستقل بین ۱ تا ۳ باند و تعداد باندهای زیر واحدهای C در هر توده بین ۱ تا ۷ باند بود. تعداد کل باندهای زیر واحدهای B مشاهده شده با تحرک‌های نسبی متفاوت بیشتر از تعداد کل باندهای زیر واحدهای C بود. تغییراتی در رابطه با شدت رنگ آمیزی باند در بین نمونه‌ها نسبت به شدت رنگ آمیزی باندها در نمونه پروتئینی گندم نان رقم چینی بهاره مشاهده شد. بطور کل، زیر واحدهای B گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین دارای شدت رنگ آمیزی بیشتری نسبت به زیر واحدهای C همان نمونه‌ها بودند.

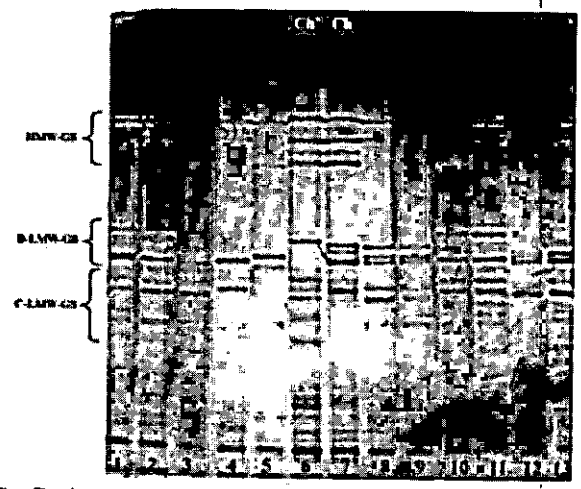
در این مطالعه مشاهده شد توده‌هائی با الگوهای باندی یکسان برای زیر واحدهایB، الگوهای باندی بسیار مشابهی برای زیر واحدهای C نشان می‌دهند. این امر تعجب بر انگیز نیست، زیرا که بعضی از زیر واحدهای B وC گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین بوسیله مکان‌های ژنی یکسانی (*Glu-3*) کنترل می‌شوند. در مجموع ۳۶ الگوی باندی متفاوت زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین در توده‌های مورد مطالعه تشخیص داده شد. این امر بدین معنی است که امکان شناسایی هر توده بوسیله الگوی باندی گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین ویژه خود وجود دارد. حضور یک باند با تحرک نسبی یکسان در الگوی باندی (گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها) نمونه‌های دو توده مستقل دال بر مشابهت توالی اسیدآمینه‌ای این دو پروتئین نمی‌باشد و تا وقتی که این دو پروتئین توالی‌یابی نشوند نمی‌توان اطمینان یافت که دو باند دارای تحرک نسبی یکسان در دو توده مورد نظر یکسان هستند.

در آزمایشی جهت بررسی یکنواختی ترکیبات زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین درون توده‌ها که بوسیله انجام الکتروفورز SDS شیب‌دار روی نیمه باقیمانده بذور با الگوی باندی گلیادین مشابه انجام گردید، امکان پیش بینی دقیق یکنواختی زیر واحدهای گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین درون توده‌ها بوسیله ارزیابی نمونه‌های پروتئینی گلیادین بذور مستقل تأیید نشد. علت این امر شاید بدلیل وجود مکان‌های ژنی کد کننده زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین دیگری به جز مکان ژنی *Glu-A3* ^{bt} در ژنوم *T. boeoticum* باشد (شکل‌های۳ و۴). اخیرا زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پائین رمز شده در مکان‌های ژنی *Glu-D4* و *Glu-D5*که به ترتیب روی کروموزوم‌های ۱D و ۷D قرار دارند، درتوده‌های *T. tauschii* مشاهده شده است (۳۱). با در نظر گرفتن هر دو مکان ژنی *Glu-A1* ^{bt} و *Glu-A3* ^{bt} نزدیک به ۱۲۳ باند با تحرک‌های نسبی متفاوت شناسایی شد. حداکثر تشابه میان توده‌ها برابر با ۰/۸۸۹و حداقل میزان تشابه برابر با صفر بدست آمد (شکل ۷).

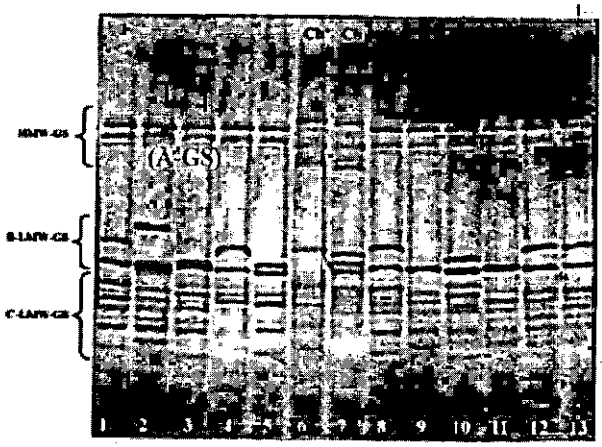
1 . 2-Mercaptoethanol
2 . Disulfide bonds
3 . Accession-specific

www.SID.ir

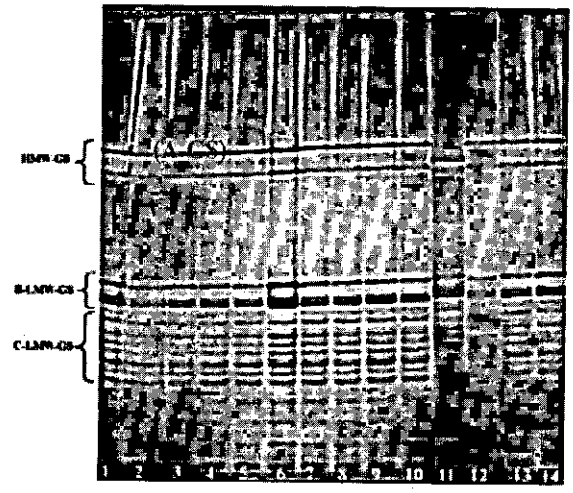
Archive of SID



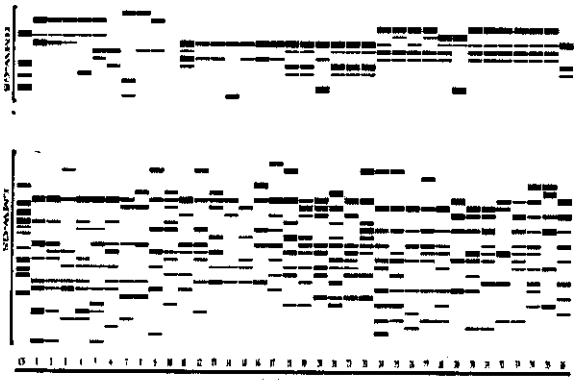
شکل۴- تفکیک الکتروفورزی گلوتنین ها به سه ناحیه A، B و C رقم چینی بهاره معمولی در چاهک شماره ۷ و رقم چینی بهاره دارای جابجایی کروموزومی در چاهک شماره ۶ به عنوان رقم استاندارد شاهد تزریق شده است. چاهک های شماره ۱۰و۱۱،۱۲و۱۳ به ترتیب مربوط به بذور دارای الگوی باندی گلیادین یکسان در توده های p۹ وp۹۵ می باشد.



شکل ۵- تفکیک الکتروفورزی گلوتنین‌ها به سه ناحیه A، B وC. زقم چینی بهاره معمولی و رقم چینی بهاره دارای جابجایی کروموزومی به ترتیب در چاهک‌های شماره ۶ و۷ به عنوان شاهد تزریق شده است. چاهک‌های شماره۱۱، ۱۲و۱۳ مربوط به بذور دارای الگوی باندی گلیادین یکسان در توده pF می‌باشد.



شکل ۶- تنوع الگوهای باندی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پائین بذور متعلق به یک خوشه از توده p۲۰ .



شکل ۷- نمایش شماتیک الگوهای باندی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پائین توده‌های مورد مطالعه *T. boeoticum* به همراه الگوی باندی رقم چینی بهاره (CS).

جدول ۲ میزان تشابه بین افراد با دو روش دایس وجاکارد را نشان می دهد و جدول ۳ نیز نتایج آزمون مقایسه ماتریس ها وآزمون مانتل را نشان می دهد. شکل۷ دندروگرام تجزیه های خوشه ای های انجام شده را نشان می دهد.

جدول ۲- مقادیر حداکثر، حداقل و متوسط تشابه میان توده‌ها با دو روش دایس و جاکارد.

	$Glu\text{-}A^{bl}$		$Gli\text{-}A^{bl}$		$Glu\text{-}A^{bl}+Gli\text{-}A^{bl}$		$Glu\text{-}A1^{bl}$		$Glu\text{-}A3^{bl}$		$Gli\text{-}A1^{ht}$		$Gli\text{-}A2^{ht}$		$Glu\text{-}A3^{ht}+Gli\text{-}A1^{ht}$	
	دایس	جاکارد	دایس	جاکارد	دایس	جاکارد	دایس	جاکارد	دایس	جاکارد	دایس	جاکارد	دایس	جاکارد	دایس	جاکارد
حداکثر تشابه	۰/۸۹	۰/۸	۰/۶	۰/۴۳	۰/۶۳	۰/۴۶	۱/۰	۱/۰	۰/۸۴	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۵۸	۰/۶۷	۰/۴۲	۰/۶۱	۰/۴۴
حداقل تشابه	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
متوسط تشابه	۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۰	۰/۱۷	۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۹	۰/۰۵

www.SID.ir

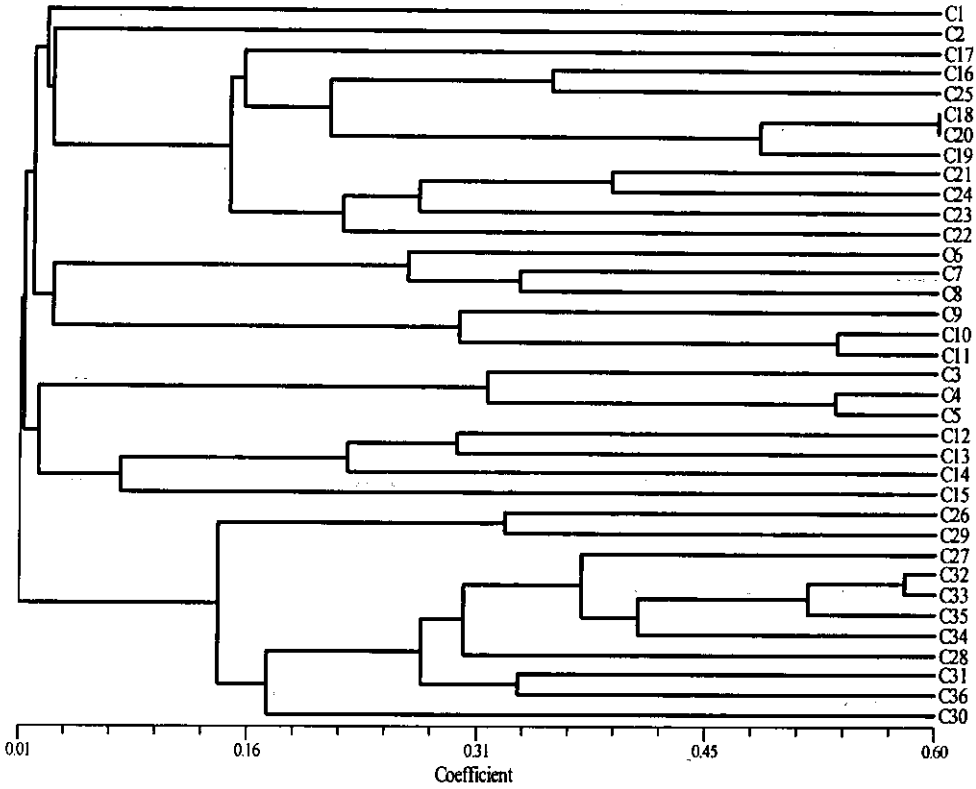
جدول ۳- نتایج آزمون مانتل (۱۰۰۰ مرتبه آزمون نرتیبی)

	همبستگی بین ماتریس تشابه دایس و ماتریس کوفنتیک حاصل از آن	همبستگی بین ماتریس تشابه جاکارد و ماتریس کوفنتیک حاصل از آن	همبستگی بین ماتریس‌های تشابه دایس و جاکارد	همبستگی بین ماتریس‌های تشابه دایس	همبستگی بین ماتریس‌های تشابه جاکارد
Glu-A bt	r=۰/۹۴۷ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۴۸ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۹۲ P=۰/۰۰۲		
Gli-A bt	r=۰/۹۳۷ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۴۴ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۹۶ P=۰/۰۰۲		
Glu-A bt+Gli-A bt	r=۰/۹۳۴ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۴۱ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۹۶ P=۰/۰۰۲		
Glu-A bt, Gli-A bt				r=۰/۵۰۶ P=۰/۰۰۲	r=۰/۴۸۶ P=۰/۰۰۲
Glu-A1 bt	r=۰/۹۷۱ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۹۱ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۹۴ P=۰/۰۰۲		
Glu-A3 bt	r=۰/۸۹۸ P=۰/۰۰۲	r=۰/۸۹۹ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۹۳ P=۰/۰۰۲		
Glu-A3 bt, Glu-A1 bt				r=۰/۳۸۹ P=۰/۰۰۲	r=۰/۳۴۴ P=۰/۰۰۲
Gli-A1 bt	r=۰/۸۹۳ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۰۷ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۹۳ P=۰/۰۰۲		
Gli-A2 bt	r=۰/۹۰۲ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۳۰ P=۰/۰۰۲	r=۰/۹۷۸ P=۰/۰۰۲		
Gli-A2 bt, Gli-A1 bt				r=۰/۶۳۶ P=۰/۰۰۲	r=۰/۵۶۶ P=۰/۰۰۲
Glu-A3 bt, Gli-A1 bt				r=۰/۴۷۴ P=۰/۰۰۲	r=۰/۴۳۷ P=۰/۰۰۲
Glu-A3 bt, Gli-A2 bt				r=۰/۱۴۸ P=۰/۹۹۹	r=۰/۱۳۶ P=۰/۹۹۹
Glu-A1 bt, Gli-A1 bt				r=۰/۰۲۵ P=۰/۷۳۱	r=۰/۰۴۳ p=۰/۸۵۰
Glu-A1 bt, Gli-A2 bt				r=۰/۰۸۳ p=۰/۹۸۰	r=۰/۰۴۲ p=۰/۸۵۲

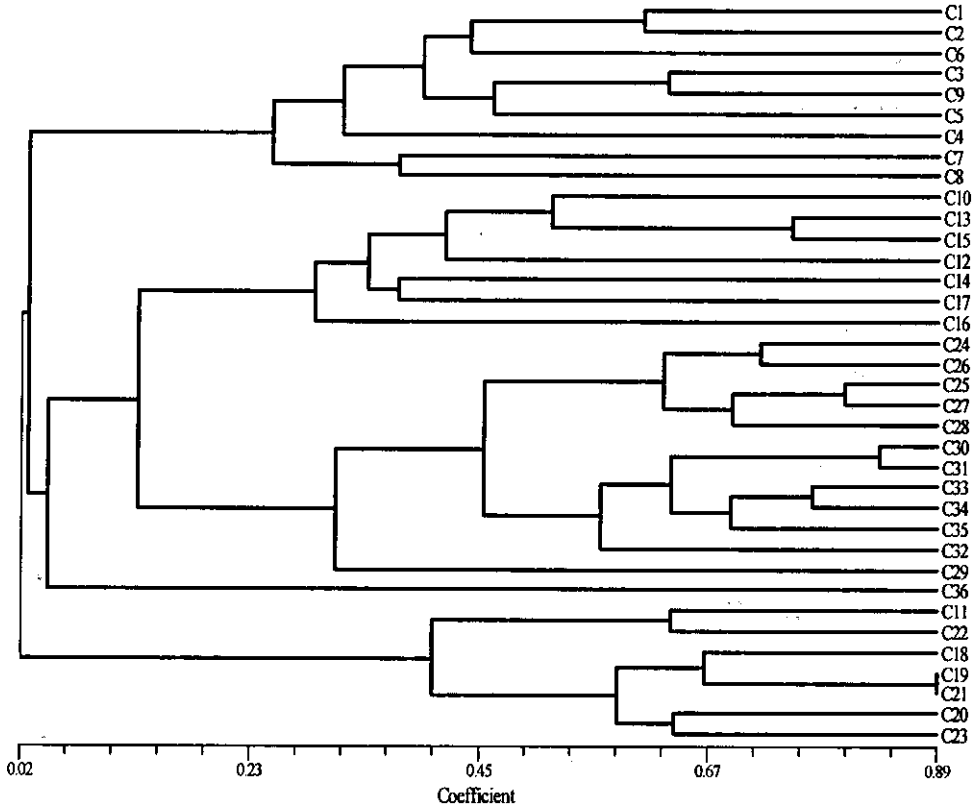
Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

الف)



ب)



شکل ۸- دندروگرام تجزیه‌های خوشه‌ای انجام شده بر اساس ضریب تشابه دایس: الف) گلیادین‌ها ب) گلوتنین‌ها.

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه‌ای بین داده‌های الگوهای باندی زیر واحدهای گلیادین و گلوتنین انجام شد. دو سری داده مذکور الگوهای مختلفی از خوشه بندی را نشان دادند. خوشه بندی داده‌های حاصل از الگوهای باندی گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها بر مبنای UPGMA و دو ضریب تشابه دایس و جاکارد، توده‌های مورد بررسی را در تعداد گروهای متفاوتی قرار داد. دندروگرام حاصل از دو روش دایس و جاکارد با هم تفاوتی نداشتند. تعداد گروه‌های حاصل از خوشه بندی الگوهای باندی گلیادین‌ها بیشتر از تعداد گروه‌های حاصل از خوشه‌بندی الگوهای باندی گلوتنین‌ها و همچنین مجموع داده‌های الگوهای باندی گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها بود که این امر در توافق با میزان متوسط تشابه کمتر میان توده‌ها در مکان ژنی $Gli\text{-}A^{bt}$ نسبت به مقادیر متناظر در مکان ژنی $Glu\text{-}A^{bt}$ و مجموع داده‌های دو مکان ژنی $Glu\text{-}A^{bt}$ و $Gli\text{-}A^{bt}$ است. خوشه‌بندی توده‌های مورد مطالعه *T. boeoticum* بر اساس داده‌های حاصل از ترکیب گلیادین‌ها سطح بالاتری از چندشکلی را در مقایسه با داده‌های حاصل از ترکیب گلوتنین‌ها نشان داد. گروه‌های حاصل از خوشه‌بندی الگوهای باندی گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها با توزیع جغرافیایی مناطق جمع آوری توده‌ها انطباق چندانی نداشت. اگر به داده‌های جدول ۲ دقت شود معلوم می‌شود که مقادیر حداکثر، حداقل و متوسط تشابه میان توده‌ها در هنگام ترکیب داده‌های مکان‌های ژنی کدکننده اُمگا و گاما گلیادین‌ها و گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین بسیار نزدیک به همان مقادیر در هنگام ترکیب داده‌های مکان‌های ژنی رمز گردان گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها می‌باشد.

همبستگی مثبت و معنی‌داری در تمام موارد به جزء سه مورد همبستگی میان ماتریس‌های $Gli\text{-}A2^{bt}$ و $Glu\text{-}A3^{bt}$، $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Glu\text{-}A1^{bt}$، $Gli\text{-}A2^{bt}$ و $Glu\text{-}A1^{bt}$ مشاهده شد (جدول ۳). نکته جالب توجه بزرگتر بودن ضریب همبستگی میان مکان‌های ژنی $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Gli\text{-}A2^{bt}$ (به ترتیب رمز گردان اُمگا و گاما گلیادین‌ها و آلفا و بتا گلیادین‌ها) (r=۰/۶۳۵) در مقایسه با ضریب همبستگی میان مکان‌های ژنی $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Glu\text{-}A3^{bt}$ (به ترتیب کد کننده اُمگا و گاما گلیادین‌ها و گلوتنین های با وزن مولکولی پائین) (r =۰/۴۷۴) بود. با در نظر گرفتن وجود پیوستگی نزدیک میان مکان‌های ژنی *Gli-1* و *Glu-3* و عدم وجود پیوستگی میان مکان‌های ژنی *Gli-1* و*Gli-2* و حتی قرار داشتن آنها روی کروموزوم‌های متفاوت، بدست آوردن ضریب همبستگی بزرگتر میان ماتریس‌های تشابه $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Gli\text{-}A2^{bt}$ را در مقایسه با $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Glu\text{-}A3^{bt}$ غیر قابل توجیه می‌سازد. علت این امر احتمالاً به دلیل وجود مکان ژنی *Gld-2* روی کروموزوم 1A باشد که تصور می‌شود با مکان ژنی *Gli-B3* که بین دو مکان ژنی *Gli-B1* و*Glu-B1* نقشه‌یابی می‌شود، همولوگ باشد. این مکان ژنی بوسیله پاین و همکاران (۱۹۸۸) با عنوان *Gli-A3* مجدداً نام گذاری شد (۷).

اگر ضریب همبستگی میان ماتریس‌های تشابه $Gli\text{-}A^{bt}$ و $Glu\text{-}A^{bt}$ (r =۰/۵۰۶) با ضریب همبستگی بین ماتریس‌های تشابه $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Glu\text{-}A3^{bt}$ (r =۰/۴۷۴) مقایسه شود معلوم می‌شود که تفاوت معنی‌داری میان این دو ضریب همبستگی وجود ندارد. دلیل این امر این است که به علت وجود پیوستگی نزدیک میان مکان‌های ژنی *Gli-1* و *Glu-3*، تشابه میان ژنوتیپ‌های افراد در رابطه با این دو مکان ژنی، عامل اصلی بوجود آورنده تشابه ژنوتیپ‌های افراد در رابطه با مکان‌های ژنی رمزگردان گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها است. ضریب همبستگی میان ماتریس‌های تشابه $Glu\text{-}A1^{bt}$ و $Glu\text{-}A3^{bt}$ (r =۰/۳۸۹) نیز مثبت و معنی دار بود، ولی در مقایسه با ضرایب همبستگی میان ماتریس‌های تشابه $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Glu\text{-}A3^{bt}$ یا $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Gli\text{-}A2^{bt}$ از ارزش عددی کمتری برخوردار بود. علت این امر ممکن است احتمالاً به دلیل عدم وجود پیوستگی نزدیک میان مکان‌های ژنی رمز گردان زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پائین باشد. بدست آوردن ضرایب همبستگی مثبت و بی معنی میان ماتریس‌های تشابه $Gli\text{-}A2^{bt}$ و $Glu\text{-}A3^{bt}$، $Gli\text{-}A1^{bt}$ و $Glu\text{-}A1^{bt}$، $Gli\text{-}A2^{bt}$ و $Glu\text{-}A1^{bt}$ را نیز می‌توان با عدم وجود پیوستگی ژنتیکی نزدیک میان مکان‌های ژنی رمز گردان آنها توجیه نمود.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که الگوی باندی گلیادین‌ها در مقایسه با الگوی باندی گلوتنین‌ها دارای چند شکلی بیشتر و در نتیجه کارایی بیشتری جهت تفکیک و شناسایی توده‌های وحشی *T. boeoticum* می‌باشد. چند شکلی الل‌های گلیادین توده‌های مورد مطالعه آشکار نمود که بلوک‌های *Gli-A1^{bt}* نسبت به بلوک‌های *Gli-A2 ^{bt}* دارای تنوع و چندشکلی بیشتری می‌باشند و این امر در توافق با مشاهده وجود تنوع کلی بالاتر گروه *Gli-1* (*Gld 1A،1B،1D*) نسبت به مکان‌های ژنی *Gli-2* (*6D*، *Gld 6A* ،*6B*) می‌باشد (۲۱). همچنین نتایج بدست آمده در این بررسی نشان داد که آنالیز الکتروفورز اسیدی گلیادین‌ها و الکتروفورز SDS شیب دارگلوتنین‌ها با وزن مولکولی پائین گروه‌بندی و شناسایی غیرمبهم ژنوتیپ‌های *T. boeoticum* را امکان پذیر می‌کند. نتایج بدست آمده به همراه صفات مرتبط با ارزش اقتصادی ممکن است در انتخاب والدین اقتصادی از کلکسیون ژرم پلاسم *T. boeoticum* کمک نماید. همچنین نتایج ما مدارک بیشتری را در رابطه با این پیشنهاد که زیر واحدهای B و C ممکن است بوسیله دو زیر خانواده ژنی مجزا رمز شوند (هر چند بطور نزدیکی با هم پیوسته‌اند) فراهم می‌نماید. مدارک بیشتری در رابطه با اینکه زیر واحدهای B و C اعضای خانواده‌های ژنی مجزا هستند بوسیله تعداد بیشتر زیر واحدهای C هنگامی که با زیر واحدهای B مقایسه می‌شود، نقاط ایزوالکتریک متفاوت آنها (۱۱) و توانایی‌شان جهت نوترکیبی با همدیگر (۲۹) و ساختار متفاوت برآورد شده از طریق توالی آمینه انتهایی (۱۶) فراهم می‌شود. اگرچه همه ژن‌های زیر واحدهای گلوتنین نوع B روی بازوهای کوتاه گروه ۱ کروموزوم‌های همیولوگ در مکان‌های ژنی *Glu-3* رمز می شوند (۹)، ولی همه زیر واحدهای C گلوتنین بوسیله ژن‌هایی در این مکان‌های ژنی رمز نمی‌شوند (۴، ۱۰). در واقع همان طوری که در فوق به اختصار ذکر گردید، توده‌هایی با الگوهای زیر واحد B یکسان اما الگوهای زیر واحد C متفاوت و بالعکس ملاحظه گردید و این امر از این فرضیه که ژن‌های رمز گردان آنها می توانند در مکان‌های ژنی متفاوتی قرار داشته باشند، حمایت می‌نماید.

پرسش در مورد ارزش سازگاری چند شکلی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر هم از لحاظ نظری و هم از لحاظ کاربردی به وسیله تعدادی از محققین مطرح شده است (۲، ۱۵، ۱۸، ۳۳). اگر چند شکلی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر خنثی باشد، بنابراین چند شکلی وسیع در پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر تنها به عنوان نشانگرهای ژنتیکی مورد توجه می‌باشد و می‌تواند اساسی برای مطالعات تکاملی فراهم نماید. ولی اگر چند شکلی موجود دارای ارزش سازگاری باشد، تنوع موجود می تواند در به حداکثر رساندن بهره‌برداری، حفاظت و استفاده از جمعیت‌های طبیعی در فعالیت‌های اصلاحی کمک نماید (۲). گلوتنین‌ها مانند دیگر پروتئین‌های دانه گندم نقشی کلیدی در فرآوری غذاهایی همچون صنعت نان، بیسکویت، غلات صبحانه‌ای و محصولات پاستا بازی می‌کنند (۲۲). تنوع محدودی در گندم‌های زراعی در مکان‌های ژنی که نقش اصلی را در تعیین کیفیت خمیر بازی می‌کنند، وجود دارد. یک راه برای بهبود کیفیت ارقام گندم جهت پخت نان بهره‌گیری از ژن‌های توده‌های بومی کشاورزی اولیه و خویشاوندان وحشی گندم نان است. گندم اینکورن وحشی می‌تواند مجموعه‌ای از واریانت‌های ژنتیکی پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم را برای بهبود کیفیت نانوایی فراهم کند، همان طوری که برای دیگر صفات زراعی فراهم نموده است (۲۰). دامنه تنوع اللی در دو مکان ژنی گلیادین و گلوتنین توده‌های مطالعه شده *T. boeoticum* در این تحقیق بسیار قابل ملاحظه است و جهت آزمایش بوسیله به‌نژادگران گیاهی می‌تواند به گندم نان انتقال داده شود.

منابع مورد استفاده

REFERENCES

۱ .شهریاری، ف.، ت. رادجن و و. شفرد. ۱۳۷۶. مطالعات توارث اشتراکی اجزای گلوتنین و گلیادین در گندم نانوائی. مجله علوم و صنایع کشاورزی، جلد ۲، شماره ۲، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

www.SID.ir

Archive of SID

2. Ciaffi, M., L. Dominici, D. Lafiandra & E. Porceddu. 1992. Seed storage proteins of wild wheat progenitors and their relationships with technological properties. Hereditas, 116: 315-322.
3. Fedak, G. 1985. Alien species as sources of physiological traits for wheat improvement. Euphytica, 34: 673-680.
4. Fleix, I., J.P. Martinant, M. Bernard, S. Bernard & G. Branlard. 1996. Genetic characterization of storage proteins in a set of F1 derived haploid lines in bread wheat. Theor. Appl. Genet. 92: 340-346.
5. Galili, G., T. Felsenburg, A.A. Levy, Y. Altschuler & M. Feldman. 1988. Inactivity of high-molecular-weight glutenin genes in wild diploid and tetraploid wheats. In Miller, T.E. And Koebner, R.M.D. (Eds.) Proc. 7th International Wheat Genetics Symposium. Cambridge, UK: Institute of Plant Science Research, 1: 81-86.
6. Gianibelli, M.C., R.B. Gupta, D. Lafiandra, B. Margiotta & F. MacRitchie. 2001. Polymorphism of high Mr glutenin subunits in *Triticum tauschii*: Characterization by chromatography and electrophoretic methods. J. Cereal Sci. 33: 39-52.
7. Gianibelli, M.C., O.R. Larroque, F. MacRitchie & C.W. Wrigley. 2001. Biochemical, genetics, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. Cereal Chem. 78(6): 635-646.
8. Gianibelli, M.C. & R.G. Solomon. 2003. A novel y-type high Mr glutenin subunit (12.4t) present in *Triticum tauschii* (Research note). 37: 253-256.
9. Gupta, R.B. & K.W. Sheperd. 1990. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. I. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats. Theor. Appl. Genet. 80: 65-74.
10. Gupta, R.B. & K.W. Sheperd. 1993. Production of multiple wheat-rye 1RS translocation stocks and genetic analysis of LMW subunits of glutenin and gliadin in wheat using these stocks. Theor. Appl. Genet. 85: 719-728.
11. Jakson, E.A., L.M. Holt & P.I. Payne. 1983. Characterization of high molecular weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and chromosomal localization of their controlling genes. Theor. Appl. Genet. 66: 29-37.
12. Lafiandra, D. & D.D. Kasarda. 1985. One and two dimensional (two–pH) polyacrilamide gel electrophoresis in a single gel separation of wheat proteins. Cereal Chem. 2(5): 314-319.
13. Law, C.N. & P.I. Payne. 1983. Genetical aspect of breeding for improved grain protein content and type in wheat. J. Cereal Sci. 1: 79-93.
14. Lawerence, G.J. & K.W. Shepherd. 1981. Chromosomal location of genes controlling seed proteins in species related to wheat. Theor. Appl. Genet. 59: 25-31.
15. Lee, Y.K., F. Békes, R. Gupta, R. Appels & M.K. Morell. 1999. The low-molecular-weight glutenin subunit proteins of primitive wheats. I. Variation in A genome species. Theor. Appl. Genet. 98: 119-125.
16. Lew, E.J.-L., D.D. Kuzmicky & D.D. Kasarda. 1992. Characterization of low molecular weight glutenin subunits by reversed–phase high–performance liquid chromatography, Sodium dodecyl sulfate-polyacrilamide gel electrophoresis, and N-terminal amino acid sequencing. Cereal Chem. 69: 508-515.
17. Marchylo, B.A., J.E. Kruger, & D.W. Hatcher. 1989. Quantitative reverse-phase high-performance liquid chromatographic analysis of wheat storage proteins as a potential quality prediction tool. J. Cereal Sci. 15: 29-37.
18. Metakovsky, E.V. & S.K. Baboev. 1992. Polymorphism of gliadin and unusual gliadin alleles in *Triticum boeoticum*. Genome, 35: 1007-1012.
19. Metakovsky, E.V. & A.A. Sozinov. 1987. Organization, variability and stability of the family of the gliadin–coding genes In: Lasztity R. & F. Bekes (Eds.) wheat: genetic data. Proc. 3rd Int. workshop on gluten proteins (Budapest, 1987) World Sci. pp. 30-45.
20. Metakovsky, E.V. & S.K. Baboev. 1992. Polymorphism and inheritance of gliadin polypeptides in *T. monococcum* L. Theor. Appl. Genet. 84: 971-978.
21. Metakovsky, E.V., A.Y. Novoselskaya, M.M. Kopus, T.A. Sobko & A.A. Sozinov. 1984. Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one-dimensional polyacrilamide gel electrophoresis. Theor. Appl. Genet. 67: 559-568.

www.SID.ir

Archive of SID

22. Payne, P.I., A.P. Rodes. 1982. Cereal storage proteins: structure and role in agriculture and food technology. Encyc. Plant Physiol. 14: 346-369.
23. Payne, P.I., L.M. Holt & P.G. Lister. 1988. *Gli-A3* and *Gli-B3*, two newly designed loci coding for omega-type gliadins and D subunits of glutenin. pp. 999-1002 in: Proceedings of the 7th International Wheat Genetics Symposium, T.E. Miller and R.M.D. Koebner, (Eds.) Institute of Plant Science Research, Cambridge, UK.
24. Payne, P.I., M. Holt, E.A. Jackson & C.N. Law. 1984. Wheat storage-proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding: Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. 304: 359-371.
25. Pogna, N.E., J.C. Autran, F. Mellini, D. Lafiandra & P. Feillet. 1990. Chromosome 1B-encoded gliadin and glutenin subunits in durum wheat: genetics and relationship to gluten strength. J. Cereal Sci. 11: 15-34.
26. Porceddu, E., C. Coeloni, D. Lafiandra, O.A. Tanzarella & G.T. Scarascia Mugnozza. 1988. Genetic resources and plant breeding: problems and prospects. Proceedings of the 7th International Wheat Genetics Symposium, Cambridge, pp. 7-21.
27. Rodriguez-Quijano, M., M.T. Nieto–Taladriz & J.M. Carrillo. 1997. Variation in B-LMW glutenin subunits in einkorn wheats. Genet. Resour. Crop Evol. 44: 539-543.
28. Sapirstein, H.D. & W. Bushuk. 1985. Computer-aided analysis of gliadin electrophorgrams. I. Improvement of precision of relative mobility determination by using three-refernce band standardization. Cereal Chem. 62(5): 372-377.
29. Singh, N.K. & K.W. Sheperd. 1988. Linkage mapping of the genes controlling endosperm proteins in wheat. I. Genes on the short arms of group 1 chromosomes. Theor. Appl. Genet. 66: 628-641.
30. Singh, N.K., K.W. Sheperd & G.B. Cornish. 1991. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. J. Cereal Sci. 14: 203-208.
31. Sreeramulu, G. & N.K. Singh. 1997. Genetic and biochemical characterization of novel low molecular weight glutenin subunits in wheat (*Triticum aestivum* L.). Genome, 40:41-48.
32. The, T.T. 1973. Chromosome location of genes conditioning stem rust resistance transferred from diploid to hexaploid wheat. Nature New boil. 241: 256.
33. Tranquilli, G., M. Cuniberti, M.C. Gianibelli, L. Bullrich, O.R. Larroue, F. MacRitchie & J. Dubcovsky. Effect of *Triticum monococcum* glutenin loci on cooking making quality and on predictive tests for bread making quality. J. Cereal Sci. 36: 9-18.
34. Waines, J.G. & P.I. Payne. 1987. Electrophoretic analysis of the high-molecular-weight glutenin subunits of *T. monococcum*, *T. urartu* and the A genome of bread wheat (*T. aestivum*). Theor. Appl. Genet. 74: 71-76.
35. Wrigley, C.W., J.C. Autran & W. Bushuk. 1982. Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins. In: Pomerans, Y. (Ed.) Adv. Cereal Sci. Technol. AACC. St. Paul. Minnesota, pp. 211-259.

www.SID.ir