

مطالعه تنوع زیر واحدهای گلوتنین در توده های *Aegilops tauschii* با استفاده از روش SDS-PAGE

Studying of glutenin subunits diversity in *Aegilops tauschii* accessions by SDS-PAGE method

زین العابدین موسوی^۱، زهرا طاهر نژاد^۲، محمد جواد زمانی^۳ و عباسعلی امام جمعه^۴

چکیده

گیاه *Aegilops tauschii* گونه ای علفی، دیپلوئید ($2n = 2x = 14 DD$) و خودگرده افشان است که ژنوم D را در اختیار گندم نان قرار داده است. در این تحقیق الگوی نواری زیرواحدهای گلوتنین (HMW) در ۲۸ توده *Ae. tauschii* از نواحی مختلف کشور همراه با Chinese spring (شاهد) بررسی شد. برای استخراج پروتئین های ذخیره ای بذر از روش لاملی و همکاران (۱۹۷۰) استفاده شد. برای تفکیک زیرواحدهای گلوتنین با استفاده از روش SDS-PAGE، الکتروفورز پروتئین های استخراج شده انجام شد. پس از رنگ آمیزی با کوماسی بلو R-۲۵۰ و نیترات نقره به منظور تجزیه داده های الکتروفورزی به حضور هر یک از باندها عدد یک و به نبود آنها عدد صفر داده شد. ماتریس تشابه محاسبه و تجزیه خوشه ای بر اساس ضریب تشابه جا کارد به روش UPGMA انجام شد. در رنگ آمیزی با کوماسی بلو دامنه ضرایب تشابه از ۰/۴۲ تا ۱ بود. در روش رنگ آمیزی با نیترات نقره دامنه ضرایب تشابه از ۰/۵۷ تا ۰/۹۵ به دست آمد. همچنین تجزیه خوشه ای بر اساس آلل های بخش HMW-GS نیز انجام شد که این دسته بندی با نواحی جغرافیایی توده ها تطابق نداشت. با توجه به نتایج به دست آمده، رنگ آمیزی با کوماسی بلو به عنوان روشی مناسب تر برای بررسی تنوع ژنتیکی از نظر باندهای پروتئینی HMW-GS پیشنهاد شد.

واژه های کلیدی: گلوتنین، تنوع ژنتیکی، *Aegilops tauschii*، SDS-PAGE

۱- دانشجوی سابق کارشناسی زارعت و اصلاح نباتات- دانشگاه زابل

۲- کارشناس ارشد اصلاح نباتات- موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال

۳- مدرس دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن

۴- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

مقدمه

(Triticum aestivum) است (هگد و همکاران، ۲۰۰۲). گندم معمولی (T.aestivum) در حدود ۸ هزار سال پیش از هیبریداسیون بین T.turgidum تتراپلوئید (ژنومهای AABB) و Ae.tauschii دیپلوئید (DD) در مزرعههای زراعی به وجود آمده است (مک فادن و سیرز، ۱۹۴۶).

برای اصلاح گندم، توده های بومی و خویشاوندان وحشی به دلیل دارا بودن ویژگی هایی مرتبط با سازگاری بلند مدت و ثابت اهمیت به سزایی دارند. جنس Aegilops که خویشاوند Triticum است منبع ارزشمندی از صفات مهم اقتصادی را برای اصلاح گندم ایجاد میکند. Ae.tauschii حامل تنوع ژنتیکی زیادی برای بیماریها، آفات، آیزوزایم ها و پروتئین های ذخیره های دانه نسبت به ژنوم D گندم نانویی است (پستسوا و همکاران، ۲۰۰۰) که می توان این صفات را با روشهای اصلاحی مرسوم به گندم نان انتقال داد (تایلی و همکاران، ۲۰۰۰).

تحقیقات نشان داده است که تنوع آلی در ترکیب پروتئین ذخیره های بذر و آیزوزایم Ae.tauschii، بیشتر از ارقام زراعی گندم است. همچنین تجزیه تنوع آلی HMW-GS نشان می دهد که Ae.tauschii ممکن است به عنوان منبع ژنی مفید برای اصلاح کیفیت گندم مورد استفاده قرار بگیرد (گیانی بلی و همکاران، ۲۰۰۱؛ یان و همکاران، ۲۰۰۳). ویسر و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که Ae.tauschii دارای پتانسیل زیادی برای بهبود کیفیت نانویی گندم است.

در مطالعه ای که توسط شاه نجات بوشهری و فخر طباطبایی (۱۳۸۰) روی الگوی نواری پروتئین ذخیره های بذر در جمعیت های گندم تائودار ایرانی انجام شد، اثرنگاری پروتئینی جمعیت های مذکور تعیین گردید.

هگد و همکاران (۲۰۰۲) با استفاده از ۱۰ آیزوزایم، تنوع ژنتیکی را در سه گونه دیپلوئید وهشت گونه پلی پلوئید جنس Aegilops بررسی کردند. نتایج نشان داد که میانگین فاصله ژنتیکی بین گونه های پلی پلوئید بزرگتر از تنوع مشاهده شده بین گونه های دیپلوئید است. همچنین وجود ژنوتیپ های

تنوع ژنتیکی جزء بنیادی تنوع زیستی است و در افراد داخل یک جمعیت و یا جمعیت های مختلف یک گونه بیانگر وضعیت تکاملی آن گونه است. به طور کلی زیاد بودن تنوع ژنتیکی در یک گونه امکان انجام برنامه های اصلاحی در آن گونه را بیشتر میکند (هایوارد و همکاران، ۱۹۹۳). گسترده ترین تکنیک برای توصیف بیوشیمیایی جمعیت های گیاهی، روشهای الکتروفورز پروتئین است. روشهای الکتروفورزی موجود بسیار متنوع و گوناگون بوده و مزیت بارز آنها ارزانی و سریع بودن نتیجه گیری در آنهاست. پروتئین های ذخیره های ضمن داشتن چندشکلی زیاد بسیار باثبات هستند. بنابراین الگوهای الکتروفورزی پروتئین ذخیره بذر به تنهایی یا با سایر نشانگرها معیار بسیار خوبی برای شناسایی جمعیت های گیاهی و ارقام خواهد بود (لاورنس و همکاران، ۱۹۸۷). گلوتن گندم ترکیب پیچیده ای از پروتئینها (گلوٹنین و گلیادین) همراه با ۵۰ مؤلفه تفکیک شده به وسیله تکنیک های الکتروفورز است (شوری و هالفورد، ۲۰۰۲). زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) و پایین (LMW-GS) نقش اصلی را در خصوصیات کشسانی آرد گندم نان دارند (ماسی و همکاران، ۱۹۹۸). تنوع بین واریته ها از نظر الگوی الکتروفورز برای زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا بسیار زیاد است (لاورنس و همکاران، ۱۹۹۸). تنوع آلی زیرواحدهای با وزن مولکولی بالای گلوٹنین و نقش آنها در تعیین کیفیت و ارزش نانویی گندم به خوبی مطالعه شده است. مطالعات ژنتیکی نشان داده است که این زیر واحدها در گندم و خویشاوندهای وحشی آن توسط مکانهای ژنی 1-Glu-1 واقع در بازوهای بلند کروموزوم های 1A، 1B و 1D کنترل می شوند (پاین، ۱۹۸۷). موفقیت الکتروفورز پروتئینها در شناسایی و تشخیص ارقام به این خاطر است که پروتئین های تفکیک شده توسط آن اولین محصول فعالیت ژنها هستند.

Aegilops tauschii گیاهی است علفی، یکساله و دیپلوئید (با ژنوم DD، $2n=2x=14$) که منبع ژنوم D گندم نانویی

مواد و روشها

مواد گیاهی: ۲۸ توده از گیاه *Ae. tauschii* جمع آوری شده توسط بانک ژن گیاهی ملی ایران از نواحی مختلف کشور (بر اساس پراکنش در استانهای مختلف) انتخاب شده و رقم Chinese spring نیز به عنوان شاهد استفاده شد. استخراج پروتئین و الکتروفورز: در این تحقیق استخراج پروتئین از تک بذر با استفاده از روش لاملی و همکاران (۱۹۷۰) (تعدیل شده توسط فولینگتن و همکاران (۱۹۸۳) و الکتروفورز ژل SDS-PAGE تک بعدی (شامل ژل متراکم کننده (۴٪) و ژل تفکیک کننده (۱۰٪) انجام شد.

رنگ آمیزی ژل:

الف- رنگ آمیزی کوماسی بلو:

ابتدا ژل در محلول رنگ آمیزی (شامل ۳ گرم رنگ کوماسی بلو آر ۲۵۰، ۲ لیتر اتانول ۹۶٪، ۴۸۰ گرم تری کلرو استیک اسید، ۱ لیتر آب و ۷ میلی لیتر اسید استیک) نگهداری و سپس در محلول رنگ بری (شامل محلول ۱۰٪ تری کلرو استیک اسید) قرار داده شد.

ب) رنگ آمیزی نیترات نقره: رنگ آمیزی نیترات نقره طی مراحل زیر انجام شد:

مرحله تثبیت: نگهداری در محلول اتانول: اسید استیک: آب (۶۰:۱۰:۳۰) شستشو با اتانول ۳۰٪.

شستشو با آب. مرحله رنگ آمیزی با محلول ۱ درصد نیترات نقره. شستشو با آب.

ظاهر سازی در محلولی شامل کربنات سدیم ۲/۵ درصد و فرمالدهید ۲ درصد.

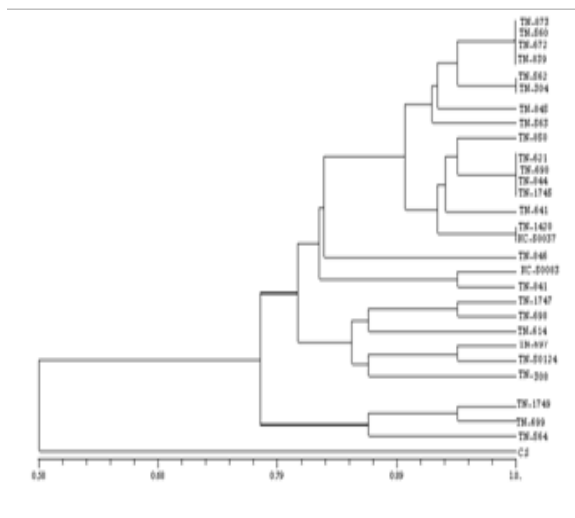
متوقف سازی در محلول اسید استیک ۱٪.

نامگذاری HMW-GS و تجزیه و تحلیل: برای نامگذاری باندها از روش یان و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد.

برای تجزیه داده های الکتروفورزی بر اساس روش جاکارد

هتروزیگوس در *Ae. tauschii* و *Ae. crassa*، نشان دهنده امکان دگرگشتی در این دو گونه مذکور داشت. ویسر و همکاران (۲۰۰۳) در تحقیقی سهم *Ae. tauschii* را در خواص گندم نان به وسیله مطالعه گندم های هگزاپلوئید مصنوعی حاصل از تلاقی گندم دوروم تتراپلوئید و *Ae. tauschii* دیپلوئید بررسی کردند. نتایج نشان داد که حجم نان، شاخص گلوتمین، حجم SDS رسوبی و حداکثر مقاومت گلوتمین بهطور معنی داری تحت تأثیر *Ae. tauschii* قرار دارد. در مطالعه های توسط ژانگ و همکاران (۲۰۰۶) زیر واحد Dy10 موجود در *Ae. tauschii* به وسیله ژل های الکتروفورز یک بعدی و دو بعدی، الکتروفورز کاپیلاری و MALDI-TOF-MS شناسایی شد. تجزیه فیلوژنتیکی دلالت بر این داشت که دوبرابر شدن ژن Glu-D1 احتمالاً ۱۶/۸۳ میلیون سال پیش اتفاق افتاده است. یان و همکاران (۲۰۰۳) تنوع گلیادین در لوکوسهای Gli-D1 و Gli-D2 را در ۱۹۸ توده *Ae. tauschii* به وسیله الکتروفورز ژل پلیاکریلامید اسیدی (A-PAGE) و الکتروفورز کاپیلاری (CE) مطالعه کردند. نتایج نشان دهنده وجود چند شکلی زیاد ژنتیکی در هر دو لوکوس گلیادین بود. گیانی بلی و همکاران (۲۰۰۲) مجموعه های با ۱۷۳ جمعیت *Triticum tauschii* را جهت ارزیابی تنوع از لحاظ زیر واحدهای گلوتمین با وزن مولکولی پایین تجزیه کردند. چند شکلی زیادی هم در تعداد و هم در میزان تحرک الکتروفورزی زیر واحدهای گلوتمین با وزن مولکولی پایین موجود در *T. tauschii* تشخیص داده شد. همچنین بعضی از آنها دارای جابجایی الکتروفورزی یکسانی با الگوی مشاهده شده برای گندم هگزاپلوئید بودند. از آنجا که *Ae. tauschii* یکی از خویشاوندان وحشی گندم نان است باید از جنبه های مختلف بررسی شود، لذا در این تحقیق به منظور تعیین تنوع ژنتیکی بین جمعیت های مذکور و مقایسه آنها با گندم هگزاپلوئید و همچنین بررسی HMW-GS از لحاظ آللهای موثر در خاصیت نانوائی، الگوی نواری پروتئینی ۲۸ توده از گیاه مذکور و گندم نان (رقم Chinese spring) تهیه شد.

قرار گرفتند. مقایسه این نمودار با پراکنش این توده ها نشان داد که این دسته بندی با پراکنش جغرافیایی آنها مطابقت ندارد (شکل ۱).



شکل ۱- دندروگرام حاصل از رنگ آمیزی با کوماسی بلو به روش UPGMA

Fig.1. Commaassie blue staining dendrogram by UPGMA method

ب) ژل رنگ آمیزی شده با نیترا ت نقره: در این روش ضرایب تشابه دارای دامنه ۰/۵۷ تا ۰/۹۵ را نشان داد. در بین توده های *Ae. tauschii* بیشترین تشابه (۰/۹۵) مربوط به توده های TN-621 و TN-846 و توده های TN-698 و TN-1745 بود و کمترین تشابه بین توده های *Ae. tauschii* را توده TN-614 با توده های TN-1749 و TN-672 (۰/۵۷) داشت. در مقایسه توده های *Ae. tauschii* با Chinese spring، کمترین شباهت ژنتیکی را رقم Chinese spring با توده های TN-692 و TN-562 (۰/۶۶) داشت و توده TN-50124 بیشترین شباهت ژنتیکی را با Chinese spring (۰/۸۴) داشت. بر اساس نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه ای، بر خلاف روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو، شاهد در یک دسته مجزا از توده ها قرار نگرفت و این گروه بندی تطابق بسیار کمی با پراکنش جغرافیایی آنها داشت. بر اساس مطالعه ۲۸ توده *Ae. tauschii* ایرانی با استفاده از نشانگرهای مولکولی میکروساتلایت و

هر یک از نوارهای الکتروفورزی به عنوان یک صفت در نظر گرفته شد و به حضور و عدم حضور نوارها به ترتیب اعداد یک و صفر اختصاص داده شد. سپس با استفاده از نرم افزار NTSYSpc2.0 ماتریس تشابه محاسبه و برای تجزیه خوشه های از روش UPGMA استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج الکتروفورز پروتئین به روش SDS-PAGE روی ژنوتیپهای مورد بررسی، تعداد زیادی نوار را بر روی ژل آشکار ساخت. تعداد نوارهای اصلی و قابل رؤیت در روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو ۱۹ باند و در روش نیترا ت نقره ۲۲ باند بود. تجزیه کای اسکور در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی دار را بین دو روش رنگ آمیزی و همچنین بین ارقام از لحاظ باند دهی نشان داد. بنابراین دو روش رنگ آمیزی و همچنین توده های مورد مطالعه تعداد باند و الگوی باندهای متفاوتی با هم دارند.

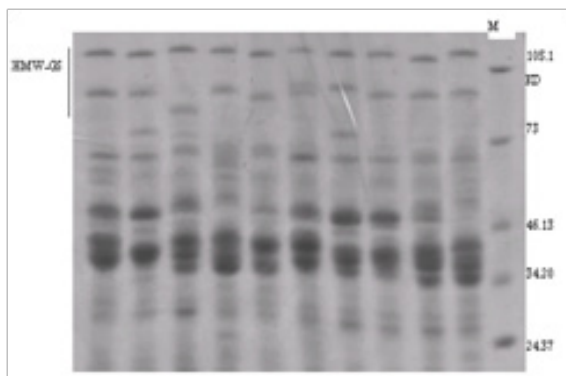
الگوی مهاجرت نوارها

الف) ژل رنگ آمیزی شده با کوماسی بلو: محاسبه ضرایب تشابه به روش جا کارد دامنه ای از ۰/۴۲ تا ۱ را نشان داد که در بین توده های *Ae. tauschii* بیشترین تشابه (۱) بین توده های TN-560، TN-672، TN-873 و TN-839 توده های TN-562 و TN-304، توده های TN-690، TN-844 و TN-621 و TN-1745 توده های TN-1420 و KC-50037 دیده شد. همچنین کمترین شباهت ژنتیکی (۰/۵۷) در بین توده های *Ae. tauschii*، بین توده های TN-564 با توده های TN-308 و TN-846 بود. همچنین شبیه ترین توده ها به Chinese spring، TN-841، TN-1749 و TN-841 با ضریب تشابه ۰/۷۳ و دورترین به آن توده های TN-873 و TN-697 با ضریب تشابه ۰/۴۲ بودند.

بر اساس نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه ای، شاهد به طور مجزا در یک گروه و توده ها هم در یک گروه اصلی

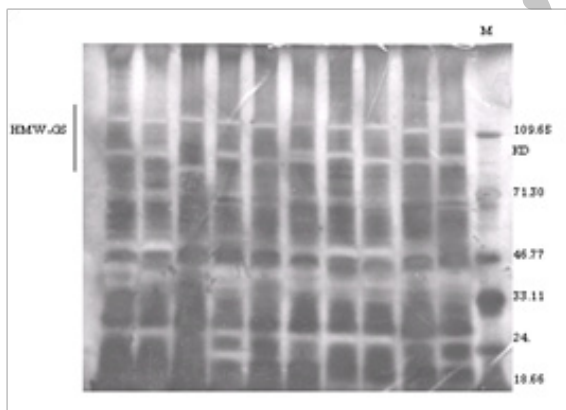
مطالعه تنوع زیر واحدهای گلوٹینین در توده‌های *Aegilops tauschii* با استفاده از روش SDS-PAGE

1.5+10, 11	TN-672
1.5+10, 11	TN-690
2+12	TN-844
1.5+ 12	TN- 1745
2+12	TN-839
2+ 12.1*	TN-846
2+ 12.1*	TN-308
1.5+10, 11	TN-563



شکل ۲- الگوی بانندی SDS-PAGE به روش رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو

Fig 2. SDS-PAGE pattern by comasssie blue staining method



شکل ۳- الگوی بانندی SDS-PAGE به روش رنگ‌آمیزی با نیترات نقره

Fig 3. SDS-PAGE pattern by silver staining method

پس از امتیازدهی زیرواحدهای HMW-GS برای توده ها، دندروگرام مربوط به آن نیز بر اساس الگوریتم UPGMA رسم شد (شکل ۴)، در این دندروگرام نیز، دسته بندی توده‌ها با نواحی جغرافیایی آنها هیچگونه تطابقی نداشت. آلل های ۱۰+۵ و ۱۲+۲ مربوط به ژنوم D به ترتیب بیشترین و کمترین

صفات مورفولوژیکی توسط طاهرنژاد (۱۳۸۵) نیز گروه بندی توده ها با پراکنش جغرافیایی آنها مطابقت نداشت و شاهد (Chinese spring) در گروه مجزایی از توده ها قرار گرفت.

نتایج حاصل از امتیازدهی HMW-GS

امتیازدهی توده ها بر روی ژل حاصل از روش رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو انجام گرفت (جدول ۱)، علت این امر وضوح بالای زیرواحدهای HMW-GS در این ژل بود (شکل ۲)، در ژل حاصل از روش رنگ‌آمیزی با نیترات نقره باندهای این قسمت از ژل به طور کامل مشخص نبودند که این موضوع می تواند به دلیل کمتر رنگ پذیر بودن پروتئین ها توسط نیترات نقره باشد (شکل ۳).

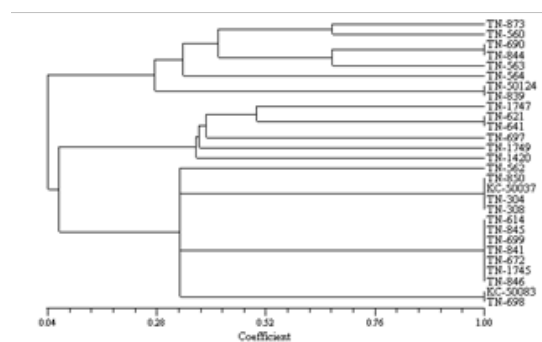
جدول ۱- امتیاز دهی HMW-GS در توده های *Ae.tauschii*

Table1. Scoring of HMW-GS in *Ae.tauschii* accessions

Glu-D1	توده Accession
1.5+ 10	TN-873
3+11	TN-1747
2+10.1*	TN-562
2+ 12.1*	TN-850
3+ 12.1*	TN-621
2+ 12	TN-614
3+ 12	TN-697
3+ 12.3	TN-1749
3+ 12.1*	TN-641
2+ 12	CS
2+12	TN-845
2+ 12	TN-699
1.5+ T2	TN-560
1.5+ 12	TN-50124
2+ 12.2*	KC-50083
1.5+ 12.1*, 11	TN-873
2+ 12	TN-564
2+12.2*	TN-841
3+ 12.2*	TN-698
2+ 12.1*	TN-1420
2+12	KC-50037

مطالعه قرار داد. تنوع آلی در لوکوس Glu-D1 باعث وقوع حداکثر اختلافات مشاهده شده در مقدار رسوب، زمان اختلاط، مقاومت خمیر و حجم نان گردید، در این بررسی مشخص شد که زیر واحدهای ۵+۱۰ که توسط آلل های Glu-D1 کنترل می شوند. نسبت به زیر واحدهای ۲+۱۱، ۲+۱۲ برتری دارند. به طور کلی زیر واحدهای گلو تین با وزن مولکولی بالا نقش کلیدی را در شکل و ساختار گلو تین بازی می کنند و ارتباط تنگاتنگی با کیفیت گندم دارند (فاتحی و همکاران، ۱۳۸۵). زیر واحدهای گلو تین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) در تعیین خواص ویسکوالاستیک خمیر و خاصیت نانوائی مهم هستند (گیانی بلی ۲۰۰۱؛ پاین ۱۹۸۷). گندم نان، زیر واحدهای گلو تین HMW که بیشترین تأثیر را بر روی خاصیت نانوائی دارند، گندم را از گیاه *Ae. tauschii* دریافت کرده است، پس جهت بالا بردن ارزش نانوائی گندم های هگزاپلوئید می توان از این گیاه استفاده کرد. همچنین در مواردی خاص بعضی ژن های گلو تین با وزن مولکولی بالای موجود در *Ae. tauschii* تأثیر معنیداری در خواص نانوائی گندم های هگزاپلوئید مصنوعی دارند (تایلی و همکاران، ۲۰۰۰). بررسی ترکیبات HMW-GS نشان داده است که تنوع آلی گسترده تری در لوکوس Glu-D1 در *Ae. tauschii* وجود دارد به طوری که در گندم نان یافت نشده است (دووراک، ۱۹۹۸). نتایج حاصل از ضرایب تشابه، نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا بین توده های گیاه *Ae. tauschii* بود. همچنین الگوی نواری HMW-GS نیز پلی مورفیسم و تنوع ژنتیکی زیادی را نشان داد. دووراک و همکاران نیز (۱۹۹۸) سطح بالای تنوع ژنتیکی در ایران را گزارش کردند. طاهر نژاد (۱۳۸۵) ۲۸ توده *Ae. tauschii* ایرانی را با استفاده از نشانگرهای مولکولی میکروساتلایت و صفات مورفولوژیکی مورد ارزیابی قرار داد، نتایج نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالایی در میان توده ها بود. سعیدی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش دادند که تنوع بسیار زیادی در بین جمعیت های *Ae. tauschii* موجود در ایران وجود دارد. بیشترین میزان تنوع ژنتیکی توده های *Ae. tauschii* ناحیه

تأثیر را بر روی خاصیت نانوائی گندم دارند (رضایی، ۱۳۷۵). با این وجود هیچ کدام از توده های مورد بررسی دارای آلل ۵+۱۰ نبودند. اما توده های TN-614، TN-697، TN-845، TN-699، TN-841، TN-672، TN-1745 و TN-846 دارای آلل های ۲+۱۲ بودند، بنابراین این توده ها دارای کیفیت نانوائی بالایی نیستند.



شکل ۴- دندروگرام حاصل از امتیازدهی آلل های HMW-GS به روش UPGMA
Fig 4. HMW-GS scoring dendrogram by UPGMA method

نجفیان و همکاران (۱۳۷۶) برای بررسی رابطه بین کیفیت آرد و زیر واحدهای گلو تین دارای وزن مولکولی بالا و ارزش نانوائی گندم نان، ۱۵۴ لاین به نژادی گندم که برای ارزش نانوائی انتخاب شده بودند را با استفاده از روش SDS-PAGE الکتروفورز کردند، آنها نتیجه گرفتند که اثر مکان های ژنی سه گانه (Glu-D1, Glu B1, Glu A1) در تغییر حجم رسوب زنی و حجم رسوب SDS از نظر آماری معنیدار است. برای این دو صفت زیر واحدهای ۱ و ۲ بهتر از نول و زیر واحد های ۵+۱۰ بهتر از ۲+۱۲ بودند.

رضایی (۱۳۷۵) رابطه بین کیفیت آرد و زیر واحدهای گلو تین با وزن مولکولی بالا را با استفاده از لاین های هموزیگوت تصادفی حاصل از تلاقی بین ۵ واریته با ارزش نانوائی کم و زیاد و دارای آلل های مختلف در ۳ لوکوس کنترل کننده پروتئین ذخیره ای گندم توسط روش SDS-PAGE مورد

به طور کلی نتایج حاصل بر اساس رنگ آمیزی با کوماسی بلو با نتایج حاصل بر اساس رنگ آمیزی با نیتراٲ نقره کاملاً متفاوت بود. اما با توجه به اینکه در رنگ آمیزی با کوماسی بلو Chinese spring (دارای ژنوم های A, B و D) در تجزیه خوشه ای از توده های *Ae. tauschii* (با ژنوم D) جدا شده و در یک گروه کاملاً جدا قرار گرفته و نیز وضوح بالای زیر واحدهای HMW-GS در ژل حاصل از روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو، در این تحقیق نتیجه گیری بر اساس نتایج بدست آمده از ژل حاصل از این نوع رنگ آمیزی (کوماسی بلو) می باشد، لذا با توجه به نتایج به دست آمده، رنگ آمیزی با کوماسی بلو به عنوان روشی مناسب تر برای بررسی تنوع ژنتیکی از نظر باندهای پروٲنن گلوٲنن به ویژه HMW-GS پیشنهاد می شود.

شمالی در طول ساحل دریای خزر بود. بنابراین بیشترین تنوع ژنتیکی *Ae. tauschii* در شمال ایران معرفی شد. دووراک و همکاران (۱۹۹۸) نیز دو جمعیت *Ae. tauschii* اجدادی را از لحاظ جغرافیایی فرض کردند: یکی سواحل دریای خزر در ایران (خزانه ژنی زیر گونه *strangulata*) و دیگری شمال مرکز ایران (خزانه ژنی زیر گونه *tauschii*). ناحیه دریای خزر در ایران به عنوان ناحیه اولیه گونه های *Ae. tauschii* و ناحیه ایجاد و تکامل گندم هگزاپلوئید مورد توجه می باشد (لوبرز ۱۹۹۱، دووراک ۱۹۹۸). همچنین این ناحیه بزرگترین سطح تنوع ژنتیکی گونه هارا در بر میگیرد (لوبرز ۱۹۹۱). ون اسلاگرن (۱۹۹۴) با مطالعه خصوصیات مورفولوژیکی، زیستگاه و اکولوژیکی *Ae. tauschii*، توزیع جغرافیایی *Ae. tauschii* را در شمال غربی، شمال شرقی و همچنین جنوب مرکز ایران اعلام کرد.

به طور کلی در این تحقیق، نتایج حاصل از الگوی نواری HMW نتوانست توده های مورد مطالعه *Ae. tauschii* را بر اساس پراکنش جغرافیایی آنها دسته بندی کند. سعیدی و همکاران (۲۰۰۵) نیز در مطالعه *Ae. tauschii* با نشانگر SSR، گروه بندی حاصل از تجزیه خوشه ای با نواحی جغرافیایی توده های مورد مطالعه مطابقت نداشت.

با وجود اینکه اکثر توده های مورد مطالعه به زیر گونه *tauschii* تعلق داشتند اما تنوع بسیار زیادی در بین آنها مشاهده شد. همچنین سطح بالای تنوع ژنتیکی در ایران توسط لوبرز و همکاران (۱۹۹۱)، دووراک و همکاران (۱۹۹۸) و پستسوا و همکاران (۲۰۰۰) گزارش شده است. سعیدی و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش دادند که تنوع بسیار زیادی در بین گیاهان وحشی موجود در ایران وجود دارد. در این تحقیق شبیه ترین توده ها به Chinese spring توده هایی از زیر گونه *strangulata* بودند. مقایسه الگوی گلیادین زیر گونه های *Ae. tauschii* نشان داد که زیر گونه *strangulata* به میزان زیادی به گندم نان نزدیک می باشد، بنابراین به احتمال زیاد زیر گونه *strangulata* جد گندم نان می باشد (یان و همکاران، ۲۰۰۳).

References

فهرست منابع

- رضایی، ع. ۱۳۷۵. رابطه بین زیر واحد های گلوتنین با وزن مولکولی بالا در گندم؛ مجله علوم کشاورزی ایران. شماره ۱؛ ص. ۱۱-۲۲.
- شاه نجات بوشهری، ع. ۱، س.م، فخر طباطبایی. ۱۳۸۰. اثر نگاری پروتئینی جمعیت های گندم تائو دار در ایران؛ مجله علوم کشاورزی ایران؛ شماره ۳ ص ۵۷۳-۵۶۷
- طاهرزاد، ز. ۱۳۸۵. تجزیه ژرمپلاسم *Aegilops tauschii* با استفاده از نشانگرهای مولکولی میکروساتلایت و بررسی های مورفولوژیکی آن. پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه زابل.
- فاتحی، ف.، ملکی، م.، صلواتی، ا.، قنادها، م. ر.، زالی، ع.ع وحسین زاده، م. ۵. ۱۳۸۵. رابطه زیر واحد های گلوتنین با وزن مولکولی بالا و کیفیت نانوائی در گندم نان. نهمین کنگره ژنتیک ایران. تهران، مرکز همایش های بیمارستان میلاد. ص ۱۰۲.
- نجفیان، گ.، س، عبد میثانی و ب، یزدی صمدی. ۱۳۷۶. تاثیر تنوع آلی زیر واحد های گلوتنین دارای وزن مولکولی زیاد در ارزش نانوائی لاین های به نژادی گندم. مجله علوم کشاورزی ایران؛ شماره ۳؛ ص ۱-۵.
- Dvorak, J., M.C, Luo., Z.L., Yang and H.B, Zhang.1998. The structure of *Aegilops tauschii* genpool and the evalotion of hexaploid wheat.Theor. Appl.Genet.97:657-670.
- Fulington, J. G., E.W. Cole and D.S. Kasarda.1983. Quantitative SDS-PAGE of total proteins from different. Cereal Chem. 6: 65-70.
- Gianibelli, M.C., O.R, Larroque., F, MacRichie and C.W, Wrigley.2001. Biochemical, genetic and molecular characterization of wheat glutenin and its components subunits. Cereal. Chem. 78: 635- 646.
- Gianiblei, M. C., Wrigley, C.W. and Mac Rithic, F. 2002 Polymorphism of low mr glutenin in *T.tauschii*. J. Cereal Sci.35: 277 – 288
- Hayward, M.D., N.O.Bosemark, and I. Romagosa, 1993.Plant breeding, Principles and prospects. Chamoan and Hall. P: 550.
- Hegde, S.G., J,Valkoun and J.G,Waines. 2002. Genetic diversity in wild and weedy *Aegilops* , *Amblyopyrum* and *Secale* species –a preliminary survey.Crop Sci.42:608-642.
- Laemml, U.K.1970.Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. Nature (Landon) 227:680-685.
- Lawerence, G. j., H. j. Moos. , K. W. Shepherd., C. W. Wrigley. 1987. Dough quality of biotypes of eleven Australian wheat cultivars that differ in HMW glutenin subunits composition. J. Cereal.Sci. 6: 99-101.
- Lubbers, E.L., K.S, Gill.,T.S, Cox and B.S, Gill.1991.Variation of molecular markers among geographically diverse accessions of *Triticum tauschii*.Genome.34:354-361..
- Masci, S., D'Ovidio, R., Lafiandra, D and Kasarda, D.D. 1998.Characterization of a low- molecular- weight subunits gene from bread wheat and the corresponding protein that represents a major subunit of the glutenin polymer.Plant.Physiol.118: 1147-1158.
- McFaden, E.S and E.R, Sears.1946. The origin of *Triticum spelta* and its free_threshing hexaploid relatives.J. Hered.37:81-89,

107-116.

Payne, P.I. 1987. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread_ making quality. *Annu.Rev. Plant. Physiol.*38:141-153.

Pestsova, E., V.Korzum., V. P, Gonchorov., K, Hamm., M. W, Ganal and M. S,Roder. 2000. Micrisatellite analysis of *Ae.tauschii* germplasm. *T.A.G* 101:100-106.

Saeidi,H., M.R,Rahiminejad., S,Valian and J.S,Heslop-Harrison. 2005. Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss.In Iran measured usig microsatellite.*Genet.Resour.*

Shewry, P.R and N.G, Halford. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *J.Exp. Bot.*53:947-958.

Tilly, M., S.R, Bean., P.A, Seib., R.G, Sears and G.L, Lookhart.2000.PCR amplification andDNA seaquencing of high molecular weight glutenin sununits 43 and 44 from *Triticum tauschii* accessions TA2450.Zn wheat gluten. Edited by P.R.Shewry and A.S.Tatham.The Royal Society of Chemistry, UK,pp. 105-108.

Van Slageren, M.N. 1994.Wild wheats:s monograph of *Aegilops L.and Amblyopyron (Jaub and Spach)*Eig.Agricultural University ,Wageningen, the Netherlands.

Wieser, H., S.L.K, Hsam and F.J, Zeller. 2003. Relationship between the qualitative and quantitative compositions of gluten protein types and technological properties of synthetic hexaploid wheat derived from *Triticum durum* and *Aegilops tauschii*. *Cereal.Chem.*80(3): 247-251.

Yan, Y., S.L.K, Hsam., J.Z, Yu., Y, Jiang and F.J, Zeller.2003.Allelic variation of the HMW glutenin subunits in *Aegilops tauschii* accessions detected by sodium dodecyl sulphate (SDS-PAGE), acid polyacrylamide gel(A-PAGE) and capillary electrophoresis.*Euphytica.*130: 377-385.

Zhang, Y., Q, Li., Y, Yan., J, Zheng., X, An., Y, Xiao., A, Wang., Y,Pei., H, Wang., S.L.K, Hsam and F.J, Zeller. 2006. Molecular characterization and phylogenetic analysis of a novel glutenin gene (Dy 10. 1t) from *Aegilops tauschii*. *Genome.*49: 735-746.