

بررسی تغییرات الگوی نواری زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی

بالا با استفاده از ارقام گندم دارای جایگزینی‌های کروموزومی

عباسعلی امام جمعه^{*}، محمود سلوکی^۲

۱ و ۲- مریمی و استادیار زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه

زابل

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: aliihamjomeh@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۸۸/۳/۱۶)

چکیده

بذر گندم شامل پروتئین‌های گیلیادین و گلوتنین می‌باشد. گلوتنین‌ها شامل اجزاء با وزن مولکولی بالا است. در این پژوهش، پروتئین بذر ۲۷ لاین جایگزینی کروموزومی مربوط به ارقام کاپلا و شاین به همراه رقم کاپلای والد و نیز رقم چینی بهاره به عنوان شاهد استخراج شد. برای تفکیک زیر واحدهای گلوتنین، از روش SDS-PAGE استفاده شد. براساس رنگ‌آمیزی ژل با کوماسی بلو (۱۰ باند چندشکل)، دامنه ضرایب تشابه جاکارد بین لاین‌ها از ۰/۵۵ تا ۱/۰۰ تا ۰/۵۵ میانگین ۰/۸۲ براورد گردید. کمترین تشابه مربوط به شاین ۴ با کاپلا ۳ (یعنی ۰/۵۵) بود. همه لاین‌های جایگزینی کاپلا کاملاً مشابه با کاپلای والد بودند، اما ضرایب تشابه کاپلا ۳ با کاپلای والدی برابر ۰/۷۳۶ بود. کاپلا ۳ با لاین‌های دیگر نیز دارای تشابه کمتری بود. براساس دندروگرام حاصل از ضرایب تشابه جاکارد و روش UPGMA، لاین‌های مورد مطالعه و شاهد به ۳ دسته تقسیم شدند که کاپلا ۳ و شاین ۴ هر کدام در یک دسته مجزا و بقیه در دسته دیگر قرار گرفتند. در رنگ‌آمیزی با نیترات نقره (۸ باند چندشکل)، نیز دامنه ضرایب تشابه جاکارد بین ۰/۷۹ تا ۱/۰۰ بود. کمترین تشابه مربوط به کاپلا ۳ با کاپلا ۴ و شاین ۷ بود. براساس دندروگرام حاصل از این ضرایب، لاین‌های مورد مطالعه و شاهد به دو دسته تقسیم شدند که کاپلا ۳ در یک دسته مجزا قرار گرفت. دندروگرام رتبه دهی باندها، لاین‌ها و شاهد را به ۳ دسته تقسیم کرد که شاین ۷، شاین ۴ و کاپلا ۳ در یک گروه قرار گرفته بودند. به طور کلی در واریته کاپلا، کروموزوم جایگزین شده A۳ و در واریته شاین کروموزوم‌های A۷ و B۴ بیشترین تغییرات را در الگوی باندی داشتند.

واژه‌های کلیدی

گندم،
جایگزینی کروموزومی،
زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا،
رنگ آمیزی کوماسی بلو،
نیترات نقره

گلوتینین با وزن مولکولی بالا به طور وسیعی در به نژادی گندم می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از پروتئین‌های ذخیره‌ای در گروه بزرگی از مطالعات نظری شناسایی واریته‌ها، ارزیابی روابط فیلوجنتیکی، تشابه‌های ژنومی و ساختار ژنتیکی مواد ژرم پلاسم به خوبی گزارش شده است. اولین آزمایش کروموزومی در گندم با استفاده از لاین‌های مربوط به واریته‌های جایگزینی تاچر و هوپ در رقم چینی بهاره انجام شد. در این آزمایش مشاهده گردید که لاین‌های جایگزینی شده در برخی صفات مثل عملکرد، وزن دانه و ارتفاع با رقم چینی بهاره تفاوت دارند (۱۱).

دشتی و همکاران (۱۳۷۷) با استفاده از سری لاین‌های جایگزینی متقابل بین دو واریته شاین و ویچیتا برای تشخیص محل کروموزومی ژن‌های موثر در زمان خوش رفتن، نشان دادند که این ژن‌ها روی کروموزوم‌های 3A و 1D ویچیتا و کروموزوم‌های 3A، 1D، 3D، 6A، 4D و 1B شاین قرار دارند و در واریته ویچیتا موجب تسریع در خوش دهی (زود رسی) و در شاین موجب تأخیر در خوش دهی (دیر رسی) می‌شوند (۳).

برای مطالعه ارزش نانوایی توسط برخی محققین از یک سری لاین جایگزینی استفاده گردید که در آنها کروموزوم‌های مربوط به کیفیت نانوایی خوب بزوستایا در یک رقم گندم فاقد کیفیت نانوایی مناسب جانشین گردیده بود. نتایج نشان دهنده اثرات مثبت و فوق العاده معنی‌دار کروموزوم‌های 1A، 1D و 6D بزوستایا بر روی حجم نان بود. لاین‌های جایگزینی مذکور با در اختیار داشتن آلل‌های مربوط به ذخیره پروتئین توجیه کننده ۷۵ درصد تفاوت در حجم نان دو رقم بودند (۵).

پاین و همکاران (۱۹۸۰) تحرك الکتروفورزی زیر واحدهای با وزن مولکولی بالای گلوتینین را در هفت واریته گندم نان به وسیله الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید در حضور SDS-SDS-PAGE) مورد مقایسه قرار دادند. در کل ۱۲ سولفات (SDS-PAGE) زیر واحد به طور واضح مشاهده شد که دارای وزن مولکولی بین ۹۵ هزار تا ۱۴۰ هزار دالتون بودند. آنها محل کروموزومی ژن‌های سترز کننده این زیر واحدها را بوسیله لاین‌های منزومیک و لاین‌های جایگزین بین واریته‌ای مشخص کردند؛ همه زیر واحدها بوسیله گروه یک کروموزوم‌های همولوگ کترل می‌شدند (۱۳).

مقدمه

لاین‌های جایگزینی کروموزومی^۱ حاصل جایگزینی یک جفت کروموزوم همولوگ مربوط به یک واریته در واریته دیگر (بدون تغییر در تعداد کروموزوم) می‌باشند (۴)، به همین دلیل این‌ها مشابه لاین‌های معمولی می‌باشند و در تولید آنها از آنیوپلوبیدها (منزومیک‌ها) و روش تلاقی برگشتی استفاده می‌شود به نحویکه باید برای تولید هر لاین باید یک پروره چندساله تلاقی برگشتی انجام داد (۱۲).

لاین‌های مذکور بسیار مفید هستند، زیرا با استفاده از آنها می‌توان کلیه تفاوت‌های ژنتیکی موجود بین دو رقم را به کروموزوم‌های مربوطه نسبت داد. اگرچه زمان زیادی برای تولید لاین‌های جایگزینی کروموزومی صرف می‌شود ولی این‌ها یکی از بهترین روش‌ها برای مطالعه صفات کمی در گندم می‌باشند (۴). از رگه‌های جایگزین بین واریته‌ای در تعیین محل کروموزومی ژن‌های مقاومت به تنش‌های محیطی استفاده زیادی شده است (۱۶).

آل‌های مختلف هر ژن ممکن است پروتئین‌هایی با ترکیبات آمینواسیدی و یا اندازه‌های مختلف تولید کنند که این پروتئین‌ها به راحتی از طریق الکتروفورز روی ژل از یکدیگر جدا شده و شناسایی می‌شوند و در نتیجه بعنوان نشانگر ژنتیکی قابل استفاده خواهند بود (۷ و ۱۲).

از آنجا که گندم یک گیاه پلی پلوبیتدی است، سطوح آنیوپلوبیدی مختلف مثل منزومیک، نولی زومیک و تری زومیک را تحمل می‌نمایند. بنابراین لاین‌های جایگزینی کروموزمی در ارقام مختلف گندم تولید شده است (۱۷).

هر رقم گندم دارای مجموعه منحصر به فردی از پلی پپتیدهای گلوتینین و گلیادین می‌باشد که مجموعاً گلوتن را تشکیل می‌دهند. این پروتئین‌ها را روی کیفیت خمیر تاثیر می‌گذارند، بنابراین شناسایی آلل‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای موثر بر روی خصوصیات خمیر برای بهبود ژنتیکی گندم ضروری است (۷ و ۱۷).

آل‌های زیر واحدهای گلوتینین با وزن مولکولی بالا دارای درجات کیفیتی متفاوت می‌باشند و شناسایی زیر واحدهای

¹ Chromosomal Substitution Lines

تجزیه داده‌های الکتروفورزی بر اساس ضریب تشابه جاکارد 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 NTSYSpc 2.02 ماتریس تشابه محاسبه و برای تجزیه خوش‌های از روش UPGMA استفاده گردید. وزن مولکولی هر یک از باندها نیز با استفاده از فرمول رگرسیون نیمه لگاریتمی برای بررسی تنوع لاین‌ها محاسبه گردید (۵).

نتایج

۲۲ باند با مهاجرت نسبی متفاوت در روش رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو تشخیص داده شد که از این تعداد ۱۰ عدد چندشکل بودند (شکل ۱). در این روش رنگ‌آمیزی، شاین ۴B دارای کمترین تعداد باند (۱۷ باند)، کاپلا ۳A ۱۸ باند و مابقی لاین‌های مورد مطالعه ۱۹ باند داشتند. در روش رنگ‌آمیزی با نیترات نقره در کل ۲۰ باند با مهاجرت نسبی متفاوت تشخیص داده شد که از این تعداد ۸ عدد آنها چندشکل بودند. در این روش کاپلا ۳D، کاپلا ۴D و شاین ۱B دارای بیشترین تعداد باند (۱۹ باند) و لاین‌های کاپلا ۳A، ۷A، ۱B، ۴B و شاین ۷B، 4D کمترین تعداد باند (۱۷ باند) و مابقی لاین‌ها دارای ۱۸ باند بودند.

برای اطلاع از وجود تفاوت‌های آماری در بین ژنتوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ نسبت باند دهی (باندهای چندشکل) و همچنین وجود تفاوت آماری در بین دو روش رنگ‌آمیزی از نظر تعداد باندهای مشاهده شده، تجزیه کای اسکوییر برروی داده‌های حاصل از آزمایش انجام گردید و نتایج بدست آمده وجود تفاوت معنی‌دار را بین ارقام از لحاظ باند دهی در سطح ۵٪ نشان داد. در روش رنگ‌آمیزی کوماسی بلو دامنه ضرایب تشابه جاکارد بین ۰/۱ تا ۰/۵۵ با میانگین ۰/۸۲ متغیر بود. کمترین ضریب تشابه ژنتیکی (۰/۵۵) بین لاین‌های شاین ۴B با کاپلا ۳A و بالاترین ضریب تشابه (۰/۱۵) بین تمامی لاین‌های جایگزینی کاپلا با کاپلا والد (شاهد) مشاهده شدو فقط ضریب تشابه کاپلا ۳A با (شاهد) ۰/۷۳۶ بود. به طور کلی کاپلا ۳A با لاین‌های دیگر نیز از ضریب تشابه کمتری برخوردار می‌باشد.

بحرایی و همکاران (۱۳۸۰) تنوع زیرواحدی گلوتین‌های سنگین مربوط به مکان‌های ژنی Glu-1 را در ۴۳ لاین و رقم گندم‌های نان ایران با استفاده از روش SDS-PAGE مورد بررسی قرار دادند. در نهایت مجموعاً ۱۴ نوع آلل و ۲۱ ترکیب آللی در گندم‌های نان مورد مطالعه مشاهده شد (۲).

هدف ما از این پژوهش، بررسی تاثیر هر کدام از کروموزوم‌های گندم نانوایی در ارقام کاپلا و شاین بر روی الگوی پروتئینی زیرواحدهای گلوتینین با وزن مولکولی بالا بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۲۷ لاین جایگزینی کروموزومی مقابل ارقام کاپلا و شاین به همراه رقم کاپلای والد و نیز رقم چینی بهاره به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). در این جدول عدد و حرف مقابله نام هر لاین، نشاندهنده شماره کروموزوم جایگزین شده و نام ژنومی که جابجای در آن صورت گرفته است، می‌باشد؛ مثلاً لاین کاپلا ۳A، یعنی رقم کاپلایی که کروموزوم ۳A در آن جایگزین شده است. این لاین‌ها در یک انتیتوی تحقیقاتی در مجارستان تهیه گردیده‌اند. استخراج پروتئین با استفاده از روش لاملی و همکاران (۱۹۷۰) (۱۰) اصلاح شده توسط فولینگتون و همکاران (۲۰۰۶) صورت گرفت (۸) و سپس الکتروفورز ژل SDS-PAGE نک بعدی انجام گردید. ژل مورد استفاده دارای دو لایه یعنی لایه بالایی یا ژل متراکم کننده (۴٪) و لایه پایینی یا ژل تفکیک کننده (۱۰٪) بود. جریان را روی آمپراژ ثابت ۱۸ میلی آمپر تنظیم گردید و سپس ژل برای رنگ‌آمیزی آماده گردید؛ به منظور مقایسه نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی نیترات نقره و کوماسی بلو، این دو نوع رنگ‌آمیزی به صورت جداگانه انجام شد (۱۵). برای نامگذاری باندها از روش ارائه شده توسط پاین و مقایسه پروفیل نمونه‌ها با رقم استاندارد چینی بهاره و الگوی مربوطه استفاده شد؛ سپس برای امتیازبندی کیفیت، جدول امتیاز دهی پاین مورد استفاده قرار گرفت (۱۴).

² Resolving gel

³ Stacking gel

Glu-D1 بود. در هر لاین ۲ تا ۴ زیر واحد مختلف وجود داشت. اکثر لاین‌ها دارای دو زیر واحد مختلف بودند به جز کاپلا ۳A که ۴ زیر واحد داشت و شاین ۷A و شاین ۴B که دارای ۳ زیر واحد بودند (جدول ۴).

طبق جدول ۴ فقط کاپلا ۳A دارای بیشترین زیرواحدهای ۴ عدد و همچنین دارای زیرواحدهای ۲^x می‌باشد؛ در حالیکه بقیه لاین‌ها در مکان کروموزومی A زیروحادی ندارند و در واقع نول هستند؛ همچنین فقط کاپلا ۳A دارای زیرواحدهای ۲+۱۲ می‌باشد و سایر لاین‌ها به جای این زیرواحدهای ۲+۱۲ و ۳+۱۲ اثر منفی در ارزش نانوایی دارند پس همه لاین‌ها و واریته شاهد مورد مطالعه دارای ارزش نانوایی بسیار کمی بودند و با توجه به اینکه زیرواحدهای ۲^x اثر مثبت در کیفیت نانوایی دارد پس کاپلا ۳A نسبت به بقیه ژنتوتیپ‌های مورد مطالعه از ارزش نانوایی بهتری برخوردار بود.

در روش رنگ آمیزی نیترات نقره دامنه ضریب تشابه بین ۰/۷ و ۰/۰۷ در روش رنگ آمیزی نیترات نقره دامنه ضریب تشابه با کاپلا ۳A با کاپلا ۴B و شاین ۷B بود (شکل ۲).

ضریب همبستگی کوفتیک بر اساس ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA در روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو (۰/۹۷۹) و در روش رنگ آمیزی با نیترات نقره (۰/۹۹۲) بود (جدول ۲ و ۳) که در هر دو روش رنگ آمیزی بالاترین ضریب کوفتیک به دست آمد. ضریب کوفتیک در هر دو روش رنگ آمیزی نشان دهنده کارایی مطلوب الگوریتم مورد استفاده است. دنдрوگرام حاصل از روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو، لاین‌های مورد مطالعه و شاهد را به ۳ گروه (شکل ۳) و در روش رنگ آمیزی با نیترات نقره به ۲ گروه تقسیم نمود (شکل ۴).

بطور کلی ۷ زیر واحد مختلف HMW-GS بین لاین‌ها شناسایی شد که شامل زیرواحدهای ۲^x در مکان ژنی Glu-A1 و ۷+۸ و ۷+۹ در مکان ژنی Glu-B1 و ۱۰+۲۱۲ و ۲+۲۱۲ و ۳+۱۲ در مکان ژنی ۷+۹

جدول ۱- لاین‌های مورد استفاده در تحقیق

ژنوتیپ	رقم	ژنوتیپ	رقم
6D کاپلا	۱۶	1A کاپلا	۱
7D کاپلا	۱۷	3A کاپلا	۲
کاپلا والد	۱۸	4A کاپلا	۳
چینی بهاره	۱۹	5A کاپلا	۴
1B شاین	۲۰	6B کاپلا	۵
7B شاین	۲۱	7A کاپلا	۶
2B شاین	۲۲	1B کاپلا	۷
5B شاین	۲۳	3B کاپلا	۸
7A شاین	۲۴	4B کاپلا	۹
4D شاین	۲۵	5B کاپلا	۱۰
3A شاین	۲۶	7B کاپلا	۱۱
4B شاین	۲۷	2D کاپلا	۱۲
6A شاین	۲۸	3D کاپلا	۱۳
3D شاین	۲۹	4D کاپلا	۱۴
		5D کاپلا	۱۵

جدول ۲- مقدار ضریب همبستگی کوفتیک (r) بدست آمده برای الگوریتم‌های مورد نظر در رنگ آمیزی کوماسی بلو

الگوریتم / ضریب تشابه	UPGMA	SINGLE	WPGMA
J	۰/۹۹۲	۰/۹۸۶	۰/۹۸۳
DIC	۰/۹۸۸	۰/۹۸۲	۰/۹۷۶
SM	۰/۹۹۰	۰/۹۸۲	۰/۹۷۹

جدول ۳- مقدار ضریب همبستگی کوفتیک (r) بدست آمده برای الگوریتم‌های مورد نظر در رنگ آمیزی نیترات نقره

الگوریتم / ضریب تشابه	UPGMA	SINGLE	WPGMA
J	۰/۹۶۶	۰/۹۷۱	۰/۹۷۹
DIC	۰/۹۶۷	۰/۹۷۵	۰/۹۷۸
SM	۰/۹۵۸	۰/۹۷۷	۰/۹۷۸

یکسان بودن زیرواحدهای HMW-GS کاپلا والد و دیگر لاین‌های جایگزین شده این واریته (به استثناء کاپلا 3A) با رقم ۳A باشد بود.

در این تحقیق امتیازات ارزش نانوایی بر اساس روش پاین و همکاران (۱۹۸۳) در لاین‌های مورد مطالعه تعیین گردید (۱۴)، که فقط کاپلا 3A از نظر ارزش نانوایی تقریباً جزء ارقام قوی به حساب می‌آید و لاین‌های دیگر و همچنین شاهد به استثنای شاین ۷A و شاین 4B (به دلیل داشتن امتیاز ۸) جزء ارقام ضعیف محسوب می‌شوند (دارای امتیاز ۶-۴).

بحث

پاین و همکاران (۱۹۸۳) با مطالعه ۱۸۵ واریته گندم توسط-SDS PAGE موفق به شناسایی ۲۰ زیرواحد مختلف شدنده به طوریکه هر واریته بین ۳ تا ۵ زیر واحد داشت. ما تعداد این زیرواحدها را در هر لاین برابر ۲ تا ۴ برآورد نمودیم. می‌توان گفت که ما تعداد این زیرواحدها را بعلت کوچکتر بودن اندازه نمونه، کمتر برآورد نموده‌ایم. آنها با استفاده از لاین‌های جایگزینی کروموزومی نشان دادند که زیرواحدهای مربوط به کروموزوم‌های گروه B بیشترین تنوع را دارد. در کل ۷ زیرواحد HMW-GS بین لاین‌ها شناسایی شد که هر لاین دارای ۲ تا ۴ زیرواحد مختلف بود (۱۴).

مقایسه زیرواحدهای موجود در کاپلا والد با زیرواحدهای لاین‌های جایگزینی این واریته نشان می‌دهد که زیرواحدهای مربوط به کاپلا 3A با بقیه متفاوت می‌باشد. کاپلا 3A دارای زیرواحدهای $7+9$ و $2+10$ است در حالی که بقیه لاین‌های جایگزینی کاپلا و کاپلا والد زیرواحدهای مذکور را ندارد (جدول ۴). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که جایگزینی کروموزوم 3A در کاپلا مسئول این تغییرات است و نیز به استثناء کروموزوم 3A، جایه جایی کروموزوم‌های دیگر در کاپلا باعث تغییر در آن نشده است. در واریته شاین نیز مقایسه زیرواحدهای HMW-GS نشان می‌دهد که شاین 7A و شاین 4B دارای زیرواحدهای $7+9$ و $3+12$ هستند در حالی که دیگر لاین‌های جایگزین شده واریته مذکور این زیرواحدها را ندارند. همچنین شاین 7B و شاین 4D دارای زیرواحد ۷ هستند؛ ولی دیگر لاین‌های جایگزین شده شاین این زیرواحد را ندارند. پس به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که جایه جایی کروموزوم‌های 7B و 4D باعث بوجود آمدن این زیرواحد (۷) شده‌اند و نیز جایه جایی کروموزوم‌های 7A و 4B دارای اثر مشترک (یعنی زیرواحدهای $7+9$ و $3+12$) هستند. زیرواحدهای HMW-GS همه لاین‌های جایگزین شده مورد مطالعه با کاپلا والد و رقم شاهد مقایسه شدند. نتیجه حاکی از

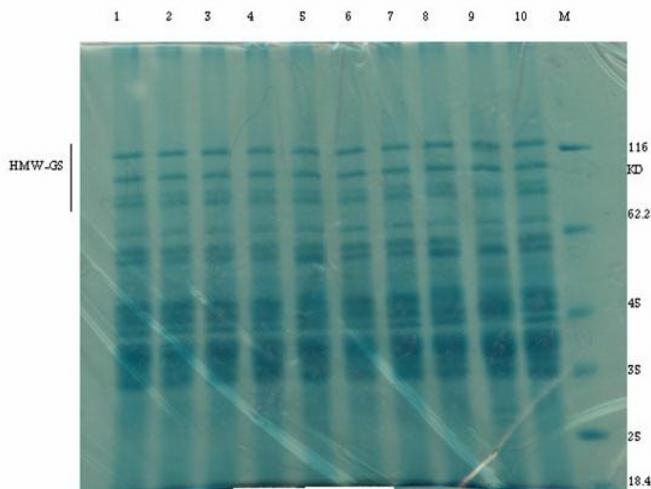
پاین و همکاران (۱۹۸۳) با مطالعه ساختار ژنتیکی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در لاین‌های جایگزینی بین واریته‌ای گندم نشان دادند که همه واریته‌های هگزاپلولئید به جز واریته ۱D بنها دارای ۲ زیرواحد اصلی موجود بر روی کروموزوم ۱D بودند. این ژن‌ها از نظر ژنتیکی به شدت به هم پیوسته هستند به طوریکه تنها ۴ نوع الگوی باندی مشاهده شد (۱۳). آنها همچنین ژن‌های کنترل کننده گلوتن را به گروه کروموزوم‌های همولوگ ۱ و ۶ محدود نمودند (۱۳).

زمرة و موریس (۱۹۸۸) با استفاده از مطالعه جایگزینی کروموزوم ۳B واریته شاین (دارای عادت رشد زمستانه) با همین کروموزوم در واریته ویچیتا نشان دادند که تفاوت بین ویچیتا و شاین در عادت رشد زمستانه مربوط به کروموزوم ۳B می‌باشد (۱۷).

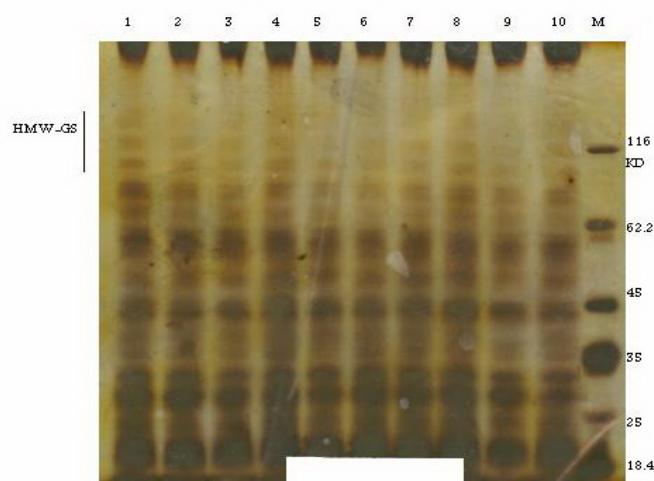
هین و همکاران (۱۹۹۴) با به کارگیری یک سری لاین جایگزینی کروموزومی از گندم شاین در رقم چینی بهاره مشخص کردند که کروموزوم‌های A، 1B، 1D و 7B بر کیفیت پخت اثر می‌گذارند. نتایج حاصل از مقایسه ارزش نانوایی لاین‌های مورد مطالعه نشان داد که فقط کروموزوم‌های ۳A و ۷A نقش مهمی در افزایش کیفیت نانوایی دارند (۹). این نتایج در تطابق کامل با نتایج ما در این پژوهش بود، چراکه ما نیز دریافتیم کروموزوم‌های ۳A و ۷A و ۴B بر روی کیفیت نانوایی گندم اثر مثبتی را دارا می‌باشند که این امر به نوبه خود حاکی از وجود ژن‌های موثر در کیفیت نانوایی بر روی این کروموزوم‌هاست که طبعاً انتقال آنها می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

جدول ۴- امتیاز دهی پاین برای زیرواحدهای HMW-GS در توده‌های مورد بررسی

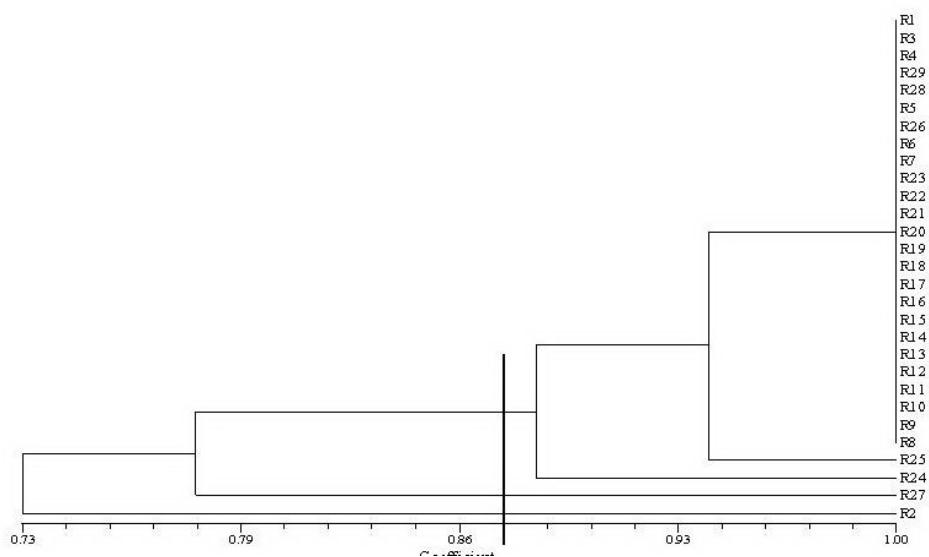
لامین	زیر واحد	امتیاز	لامین	زیر واحد	امتیاز
1A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	6D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
3A	۲* ، ۷+۸ ، ۲+۱۰ ، ۲+۱۲	۹	7D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
4A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	کاپلا والد	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
5A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	چینی بهاره	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
6B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	1B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
7A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	7B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۴
1B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
3B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	5B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
4B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	7A	Null ، ۷+۸ ، ۷+۹ ، ۳+۱۲	۸
5B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	4D	Null ، ۷ ، ۲+۱۲	۴
7B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	3A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
2D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	4B	Null ، ۷+۸ ، ۷+۹ ، ۳+۱۲	۸
3D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	6A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
4D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
5D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶			



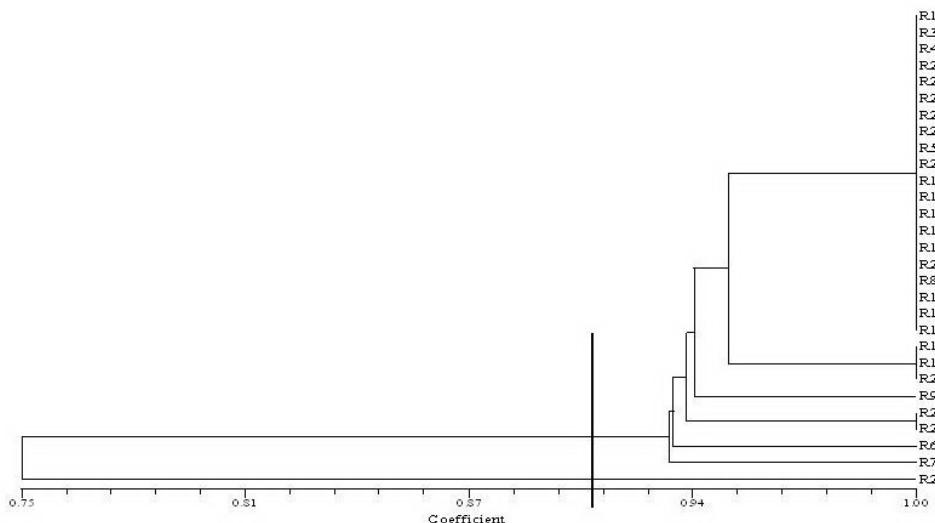
شکل ۱- نمونه‌ای از الگوهای باند دهی تولید شده با روش SDS-PAGE در روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو (M مارکر مولکولی وزنی است)



شکل ۲- نمونه‌ای از الگوهای باند دهی تولید شده با روش SDS-PAGE در روش رنگ آمیزی نیترات نقره (M مارکر مولکولی وزنی است)



شکل ۳- دندروگرام حاصل از روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد در روش کوماسی بلو



شکل ۴- دندروگرام حاصل از روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد در روش نیترات نقره

سپاسگزاری

بدینوسیله مراتب سپاس خود را از تلاش های آقای زین العابدین موسوی و همچنین خانم ها سمیه متظری نژاد و زهراء طاهر نژاد (دانشجویان سابق گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل) اعلام می داریم.

منابع

- ۱- ارزانی ا (۱۳۸۰) اصلاح گیاهان زراعی، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.
- ۲- بحرایی ص (۱۳۸۰) زیر واحد های گلوتنین سنگین در گندم های نان تحت کشت ایران، دومین همایش بیوتکنولوژی ایران- کرج.
- ۳- دشتی ح ، یزدی صمدی ب، و صرافی ا (۱۳۷۷) تعیین کروموزوم های حامل ژن های کنترل کننده تاریخ خوش دهی با استفاده از رگه های جایگزینی کروموزومی متقابل در گندم زمستانه، مجله علوم کشاورزی ایران، ج ۶۹، ش ۳: ۴۷۷-۴۸۱.
- ۴- عبد میشانی س، و شاه نجات بوشهری ع (۱۳۷۷) اصلاح نبات تکمیلی، جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران.
- ۵- نورا ر (۱۳۸۳) بررسی تنوع ژنتیکی گندم های وحشی *Aegilops tiuncialis* ایران با استفاده از تکنیک

دنگ و همکاران (۲۰۰۵) با مطالعه HMW-GS لاین های تقریباً ایزوژنیک (Near Isogenic lines) به وسیله SDS-PAGE اختلاف معنی داری در ترکیبات پروتئین دانه در میان لاین های تقریباً ایزوژن را نیافتند؛ آنها همچنین تأثیر زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا را بر روی کیفیت پخت نان در لاین های پیشرفته گندم چینی بهاره بررسی کردند (۶).

باید به این نکته اشاره نمود که این برای اولین بار بود که پژوهش با استفاده از این لاین ها برروی کیفیت نانوایی گندم انجام گرفت و این لاین ها پیش از این برای بررسی محل کروموزومی ژن های مقاومت به سرما و خشکی در گندم استفاده شده بودند. در پایان به سایر پژوهشگران پیشنهاد می گردد که از روش های مناسبی مانند پروتئومیکس برای بررسی سایر اجزای پروتئینی مؤثر در کیفیت نانوایی گندم و از نشانگر مولکولی STS برای تعیین دقیق محل کروموزومی آلل های مؤثر در کیفیت نانوایی استفاده کنند. همچنین با موتاسیون زایی، در جهت بهبود آلل های نامطلوب موجود برروی کروموزوم های 7B و 4D تلاش شود و روش های کلاسیک و مدرن نیز برای انتقال آلل های مطلوب موجود برروی کروموزوم های 3A، 7A و 4D بکار گرفته شود. شناسایی^۴ SNPs موثر بر کیفیت نانوایی با روش های نوین نیز می تواند راهگشای آینده در این زمینه باشد.

⁴ Single nucleotide polymorphisms

الکتروفورز پروتئین های ذخیره ای دانه، پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نبات، دانشگاه تهران.

6. Deng Z Y and Tian J C, Sun GX (2005) Influence of high molecular weight glutenin subunit substitution on rheological behaviour and bread baking quality of near-isogenic lines developed from Chinese wheats. *Plant breeding*, 124(5): 428-431
7. Flacte M E and Uhlen A (2003) Association between allelic variational combined Gli -1, Glu - 1 loci and protein quality common wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Cereal science*, 37: 129-137
8. Fulington J G and Cole E W, Kasarda D D (2006) Quantitative SDS-PAGE of total proteins from different wheat varieties. *Journal of the science of food and agriculture*, 31(1): 43-53
9. Hyne V and Kearsey M J, Martinez O, Gang W, Snape JW (1994) A partial genome assay for quantitative trait loci in wheat (*Triticum aestivum*) using different analytical techniques. *Theoretical and applied genetics*, 89(6):735-741
10. Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature* (London), 227:680-685.
11. Lufiudra D and Benedetelli S (1985) Seed storage protein and wheat genetics one and two – bimensional (two – PH) polyacrylamide Gel Electropgoresis in a single Gel: separation of wheat protein. *Cereal chemistry Journal*, 62: 314 – 319
12. Lupton F G H (1988) Wheat breeding: Its scientific basis. Chapman & Hall, London, 566pp
13. Payne P I and Low C I, Mudd E E (1980) Control by homologous group 1 chromosomes of the high – molecular – weight subunit of glutenin a major protein of wheat endosperm. *Theoretical and applied genetics*, 58:113-120
14. Payne P I and Lawrence G j (1983) Catalogue of alleles for the complex genoloci, GluA1, GluB1, GluD1, Which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal research community*, 11: 29-35
15. Sambrook J and E F Fritsch, Maniatis T (1989) Molecular cloning: a laboratory manual. Cold spring harbor laboratory press, New York
16. Snap J W and Low C W (1985) Genetical analysis of chromosome 5A of wheat and its influence on important agronomic characters. *Theoretical and applied genetics*, 71(3):518-520
17. Zemetra R S and Morris R (1988) Effects of an intercultivaral chromosome substitution on winter hardiness and vernalization in wheat. *Genetics*. 119(2): 453 – 456