جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله زارعت و اصلاح نباتات
جلد ۶، شماره ۱، بهار ۱۳۸۹

مطالعهٔ تنوع زیر واحدهای گلوتنین در توده های iihcsuat spoligeA با استفاده از روش EGAP-SDS

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

زین العابدین موسوی[۱]، زهرا طاهرنژاد[۲]، محمد جواد زمانی[۳] و عباسعلی امام جمعه[۴]

چکیده

گیاه Aegilops tauschii گونه ای علفی، دیپلویید (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 پروتیین های ذخیرهای 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 تجزیهٔ داده های الکتروفورزی به حضور هر یک از باندها عدد یک و به نبود آنها عدد صفر داده شد. ماتریس تشابه محاسبه و تجزیهٔ خوشه ای بر اساس ضریب تشابه جاکارد به روش UPGMA انجام شد. در رنگ آمیزی با کوماسی بلو دامنهٔ ضرایب تشابه از ۰/۴۲ تا ۱ بود. در روش رنگ آمیزی با نیترات نقره دامنهٔ ضرایب تشابه از ۰/۵۷ تا ۰/۹۵ به دست آمد. همچنین تجزیه خوش های 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 زراعت 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

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

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 ذخیرهای ضمن داشتن چندشکلی زیاد بسیار باثبات هستند. بنابراین الگوهای الکتروفورزی پروتئین ذخیرهٔ 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 (گلوتنین و گلیادین) همراه با ۵۰ مؤلفه تفکیک شده به وسیلهٔ تکنیک های الکتروفورز است (شوری و هالفورد، ۲۰۰۲). زیرواحدهای گلوتنین 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 گلوتنین با وزن مولکولی بالا بسیار زیاد است (لاورنس و همکاران، ۱۹۹۸). تنوع آللی زیرواحدهای با وزن مولکولی بالای گلوتنین و نقش آنها در تعیین کیفیت و ارزش نانوایی گندم به خوبی مطالعه شده است. مطالعات ژنتیکی نشان داده است که این زیر واحدها در گندم و خویشاوندهای وحشی آن توسط مکانهای ژنی Glu-۱واقع در بازوهای بلندکروموزوم های 1A، 1Bو 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 دیپلویید (با ژنوم2n=2x=14, DD) که منبع ژنوم D گندم نانوایی (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 ذخیرهای دانه نسبت به ژنوم D گندم نانوایی است (پستسووا 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 آللی در ترکیب پروتیین ذخیرهای بذر و آیزوزایم Ae.tauschii، بیشتر از ارقام زراعی گندم است. همچنین تجزیهٔ تنوع آللی 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 نانوایی گندم است.

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

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

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

هتروزیگوس در Ae.tauschii و Ae.crassa، نشان دهندهٔ امکان دگرگشنی در این دو گونهٔ مذکور داشت. ویسر و همکاران (۲۰۰۳) در تحقیقی سهم Ae.tauschii را در خواص گندم نان به وسیلهٔ مطالعه گندم های هگزاپلویید مصنوعی حاصل از تلاقی گندم دوروم تتراپلویید و Ae.tauschii دیپلویید بررسی کردند. نتایج نشان داد که حجم نان، شاخص گلوتن، حجم SDS رسوبی و حداکثر مقاومت گلوتن بهطور معنی داری تحت تأثیر Ae.tauschii قرار دارد. در مطالعهای توسط ژانگ و همکاران (۲۰۰۶) زیر واحد Dy10 موجود در Ae.tauschii بهوسیلهٔ ژل های الکتروفورز یک بعدی و دو بعدی، الکتروفورز کاپیلاری و MALDI-TOF-MS شناسایی شد. تجزیهٔ فیلوژنتیکی دلالت بر این داشت که دوبرابرشدن 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.tauchii بهوسیلهٔ الکتروفورز ژل پلیآکریلامید اسیدی (A-PAGE) و الکتروفورز کاپیلاری (CE) مطالعه کردند. نتایج نشاندهندهٔ وجود جندشکلی زیاد ژنتیکی در هر دو لوکوس گلیادین بود. گیانی بلی و همکاران (۲۰۰۲) مجموعهای با ۱۷۳جمعیت Triticum tauchii را جهت ارزیابی تنوع از لحاظ زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین تجزیه کردند. چند شکلی زیادی هم در تعداد و هم در میزان تحرک الکتروفورزی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین موجود در T.tauchii تشخیص داده شد. همچنین بعضی از آنها دارای جابجایی الکتروفورزی یکسانی با الگوی مشاهده شده برای گندم هگزاپلویید بودند.

از آنجا که Ae.tauschii یکی از خویشاوندان وحشی گندم نان است باید ازجنبه های مختلف بررسی شود، لذا در این تحقیق به منظور تعیین تنوع ژنتیکی بین جمعیت های مذکور و مقایسهٔ آنها با گندم هگزاپلویید و همچنین بررسی HMW-GS از لحاظ آللهای موثر در خاصیت نانوایی، الگوی نواری پروتئینی ۲۸ توده از گیاه مذکور و گندم نان (رقم Chinese spring) تهیه شد.

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 (4%) و ژل تفکیککننده (۱۰%) انجام شد.

رنگ آمیزی ژل:

الف- رنگ آمیزی کوماسی بلو:

ابتدا ژل در محلول رنگآمیزی (شامل ۳گرم 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) رنگآمیزی نیترات نقره: رنگ آمیزی نیترات نقره طی مراحل زیر انجام شد:

مرحلهٔ تثبیت: نگهداری در محلول اتانول: اسید استیک: آب (۶۰:۱۰:۳۰)

شستشو با اتانول ۳۰%.

شستشو با آب.

مرحلهٔ رنگ آمیزی با محلول ۱ درصد نیترات نقره.

شستشو با آب.

ظاهرسازی در محلولی شامل کربنات سدیم ۲/۵ درصد و فرمآلدهید ۲درصد.

متوقف سازی در محلول اسید استیک۱%.

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

هر یک ازنوارهای 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 تجزیهٔ خوشهای از روش UPGMA استفاده شد.

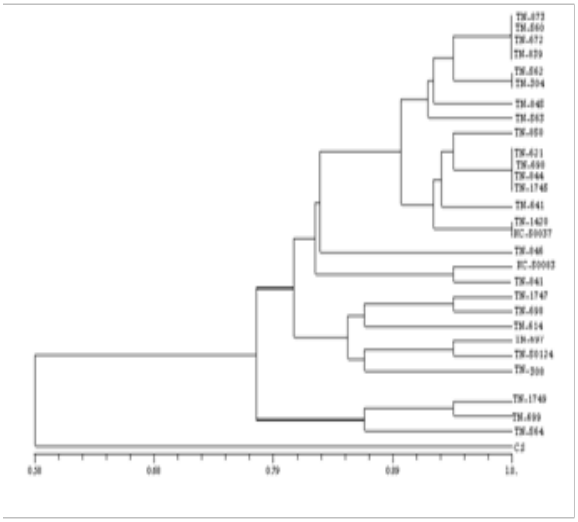
نتایج و بحث

نتایج الکتروفورز پروتئین به روش SDS-PAGE روی ژنوتی پهای مورد بررسی، تعداد زیادی نوار را بر روی ژل آشکار ساخت. تعداد نوارهای اصلی و قابل رؤیت در روش رنگآمیزی با کوماسی بلو ۱۹ باند و در روش نیترات نقره ۲۲ باند بود. تجزیهٔ کای اسکویر 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 باندی متفاوتی با هم دارند.

الگوی مهاجرت نوارها

الف) ژل رنگ آمیزی شده با کوماسی بلو: محاسبه ضرایب تشابه به روش جاکارد 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-844 ،TN-690،TN-621و 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 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 قرار گرفتند. مقایسه این نمودار با پراکنش این توده ها نشان داد که این دسته بندی با پراکنش جغرافیایی آنها مطابقت ندارد (شکل ۱).



شکل۱- دندروگرام حاصل از رنگ آمیزی با کوماسی بلو به روش UPGMA

Fig.1. Commasssie blue staining dendrogram by UPGMA method

ب) ژل رنگ آمیزی شده با نیترات 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 تودههای 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 تودهٔ TN-50124 بیشترین شباهت ژنتیکی را با Chinese spring (۰/۸۴) داشت. براساس نمودار درختی حاصل از تجزیهٔ 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

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.

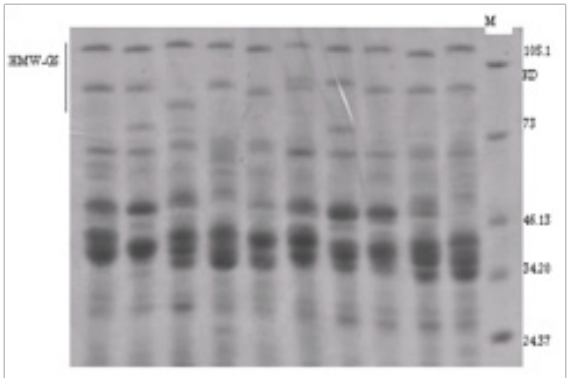
نتایج حاصل از امتیازدهی HMW-GS

امتیازدهی توده ها بر روی ژل حاصل از روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو انجام گرفت (جدول۱)، علت این امر وضوح بالای زیرواحدهای HMW-GS در این ژل بود (شکل۲)، در ژل حاصل از روش رنگ آمیزی با نیترات نقره باندهای این قسمت از ژل به طور کامل مشخص نبودند که این موضوع می تواند به دلیل کمتر رنگ پذیر بودن پروتیین ها توسط نیترات نقره باشد (شکل۳).

جدول۱- امتیاز دهی HMW-GS در توده های Ae.tauschii

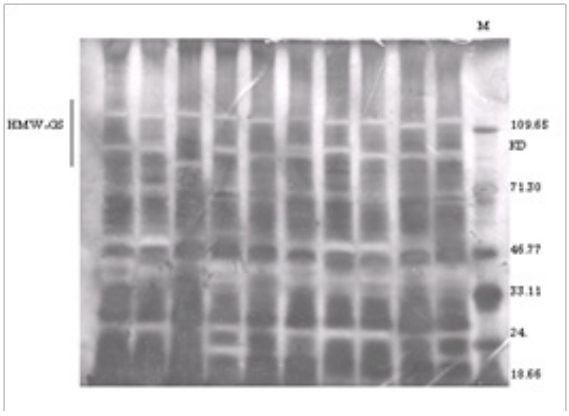
Table1. Scoring of HMW-GS in Ae.tauschii accessions

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
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 باندی SDS-PAGE به روش رنگآمیزی با کوماسی بلو

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

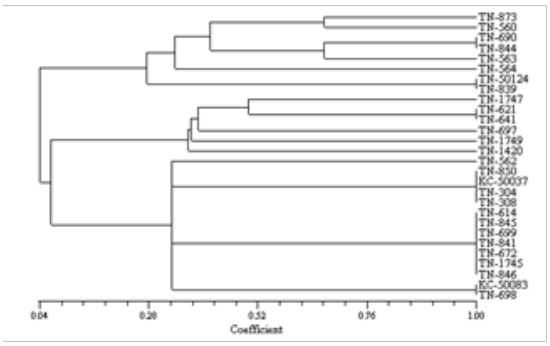


شکل ۳- الگوی باندی SDS-PAGE به روش رنگ آمیزی با نیترات نقره

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 ۵+۱۰ و ۲+۱۲ مربوط به ژنوم D به ترتیب بیشترین و کمترین

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



شکل۴- 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 رابطهٔ بین کیفیت آرد و زیرواحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا و ارزش نانوایی گندم نان، ۱۵۴ لاین به نژادی گندم که برای ارزش نانوایی 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,GluA1) در تغییر حجم رسوب زلنی و حجم رسوب SDS از نظر آماری معنیدار است. برای این دو صفت زیرواحدهای ۱و*۲ بهتراز نول و زیر واحد های ۱۰+۵ بهتر از ۱۲+۲ بودند.

رضایی (۱۳۷۵) رابطه بین کیفیت آرد و زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا را با استفاده از لاین های هموزیگوت تصادفی حاصل از تلاقی بین ۵ واریته با ارزش نانوایی کم و زیاد و دارای آلل های مختلف در ۳ لوکوس کنترل کننده پروتئین ذخیره ای گندم توسط روش SDS-PAGE مورد مطالعه قرار داد. تنوع آللی در لوکوس Glu-D1 باعث وقوع حداکثر اختلافات مشاهده شده در مقدار رسوب، زمان اختلاط، مقاومت خمیر و حجم نان گردید، در این بررسی مشـخص شد که زیر واحـدهای ۱۰+۵ که توسط آلل های Glu-D1 کنترل می شوند. نسبت به زیرواحدهای ۱۱+۲، ۱۲+۲ برتری دارند. به طور کلی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا نقش کلیدی را در شکل و ساختار گلوتن بازی می کنند و ارتباط تنگاتنگی با کیفیت گندم دارند (فاتحی و همکاران، ۱۳۸۵). زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) در تعیین خواص ویسکوالاستیه خمیر و خاصیت نانوایی مهم هستند (گیانی بلی ۲۰۰۱؛ پاین۱۹۸۷). گندم نان، زیر واحدهای گلوتنین HMW که بیشترین تأثیر را بر روی خاصیت نانوایی دارند، گندم را از گیاه Ae.tauschii دریافت کرده است، پس جهت بالا بردن ارزش نانوایی گندم های هگزاپلویید می توان از این گیاه استفاده کرد. همچنین در مواردی خاص بعضی ژن های گلوتنین با وزن مولکولی بالای موجود در Ae.tauschii تأثیر معنیداری در خواص نانوایی گندم های هگزاپلویید مصنوعی دارند (تایلی و همکاران،۲۰۰۰). بررسی ترکیبات HMW-GS نشان داده است که تنوع آللی 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 دهندهٔ تنوع ژنتیکی بالا بین توده های گیاه Ae.tauschii بود. همچنین الگوی نواری HMW-GS نیز پلیمورفیسم و تنوع ژنتیکی زیادی را نشان داد. دووراک و همکاران نیز (۱۹۹۸) سطح بالای تنوع ژنتیکی در ایران را گزارش کردند. طاهرنژاد (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

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 هگزاپلویید مورد توجه می باشد (لوبرز ۱۹۹۱، دووراک ۱۹۹۸). همچنین این ناحیه بزرگترین سطح تنوع ژنتیکی گونه ها را در بر میگیرد (لوبرز ۱۹۹۱).

ون اسلاگرن (۱۹۹۴) با مطالعه خصوصیات مورفولوژیک، 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 پستسووا 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).

به طور کلی نتایج حاصل بر اساس رنگ آمیزی با کوماسی بلو با نتایج حاصل بر اساس رنگ آمیزی با نیترات نقره کاملا 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 کاملا 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 باند های پروتئین گلوتنین به ویژه HMW-GS پیشنهاد می شود.

فهرست **منابع** **References**

رضایی، ع. ۱۳۷۵. رابطه بین زیر واحد های گلوتنین با وزن مولکولی بالا در گندم؛ مجله علوم کشاورزی ایران. شماره ۱؛ ص. ۲۲-۱۱.

شاه نجات بوشهری، ع. ا.، س.م، فخر طباطبایی. ۱۳۸۰. اثر نگاری پروتئینی جمعیت های گندم تائو دار در ایران؛ مجله علوم کشاورزی ایران؛ شماره ۳ ص ۵۷۳-۵۶۷

طاهرنژاد، ز. ۱۳۸۵. تجزیه ژرمپلاسم Aegilps 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. ه. ۱۳۸۵. رابطه زیر واحد های گلوتنین با وزن مولکولی بالا و کیفیت نانوایی در گندم نان. نهمین کنگره ژنتیک ایران. تهران، مرکز همایش های بیمارستان میلاد. ص۱۰۲.

نجفیان، گ.، س، عبد میشانی و ب، یزدی صمدی. ۱۳۷۶. تاثیر تنوع آللی زیر واحد های گلوتنین دارای وزن مولکولی زیاد در ارزش نانوایی لاین های به نژادی گندم. مجله علوم کشاورزی ایران؛ شماره ۳؛ ص ۵-۱.

Dvorak, J., M.C, Luo., Z.L, Yang and H.B, Zhang.1998. The stracture 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.

Laemmli, 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.Agricuctural 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 electerophoresis.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.