

بررسی تنوع ژنتیکی گلوٲین‌های تعدادی از توده‌های گندم بومی منطقه زنجان

آرش محمدی^۱، مصطفی ولیزاده^۲، محمد مقدم^۳، یوسف ارشد^۳، ندا جوادیان^۴ و ناصر محبعلی‌پور^۵

چکیده

به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی پروٲئین‌های ذخیره‌ای دانه توده‌های بومی گندم منطقه زنجان ۳۰ نمونه بذر گندم متعلق به این استان (بانک ژن گیاهی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج) از طریق الکتروفورز مورد تجزیه قرار گرفت. الکتروفورز گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد و گلوٲین‌های با وزن مولکولی کم از طریق SDS-PAGE با روش استخراج متوالی انجام گرفت. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد، سه توده تتراپلوئید با شماره‌های TN-۱۱۳۷۲، TN-۱۱۷۳۴ و TN-۱۱۷۴۳ شناسایی شدند که فاقد آلل در مکان ژنی *Glu-D1* بودند. در حالی‌که در مکان ژنی *Glu-1*، ۱۱ آلل و ۱۶ نوع زیر واحد دارای وزن مولکولی زیاد یافت شدند. در مکان ژنی *Glu-A1*، ۸۳/۳۳ درصد از توده‌های گندم منطقه زنجان دارای زیر واحد نول و ۱۶/۶۷ درصد بقیه واجد ۲* بودند. در مکان ژنی *Glu-B1*، آلل ۷+۸ با ۳۶/۶۷ درصد دارای بیشترین فراوانی بوده و آلل‌های ۱۳+۱۶ و ۲۱ با ۳/۳۳ درصد کم‌ترین فراوانی را داشتند. یک زیر واحد جدید مربوط به این مکان ژنی در توده با شماره TN-۱۱۳۸۴ شناسایی و ۶* نام‌گذاری شد. در مکان ژنی *Glu-D1* بیشترین فراوانی در توده‌های بومی هگزاپلوئید مربوط به آلل ۲+۱۲ بود که در ۷۷/۷۸ درصد آن‌ها مشاهده شد و در بقیه آلل ۳+۱۲ تشخیص داده شد. در مکان ژنی *Glu-3* در کل ۱۲ نوار گلوٲین با وزن مولکولی کم با حرکت نسبی مختلف شناسایی شدند و میزان تنوع ژنتیکی در این مکان ژنی ۰/۸۴ برآورد گردید. از تنوع بالا در پروٲئین‌های ذخیره‌ای دانه می‌توان در تشخیص ارقام، سطح پلوئیدی آن‌ها و انجام آزمون‌های نانویی در جهت اصلاح خواص کیفی گندم استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز، تنوع ژنتیکی، توده‌های گندم، گلوٲین.

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۷/۴/۱۲

۱- پژوهشگر ایستگاه تحقیقات زیتون طارم

۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۳- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر کرج

۴- پژوهشگر پژوهشکده فیزیولوژی و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۵- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه

محمدی، ا. بررسی تنوع ژنتیکی گلوٹنین‌های تعدادی از توده‌های گندم...

مقدمه و بررسی منابع

یکی از صفات مورد توجه در اصلاح کیفی گندم، ارزش نانوائی آن است. کیفیت نهایی نان معمولاً از طریق آزمایش استاندارد پخت نان تعیین می‌شود که به‌صرف وقت و هزینه زیاد نیاز دارد. ولی از معیارهای مختلفی به‌عنوان شاخص پیش‌بینی ارزش نانوائی گندم استفاده می‌شود که نسبتاً سریع و کم هزینه‌اند. مطالعات گسترده در سال‌های اخیر نشان داده که یکی از دلایل عمده در تمایز ارقام گندم از لحاظ ارزش نانوائی، نوع پروتئین آندوسپرم آن‌ها است (۷).

پروتئین آندوسپرم دانه گندم عمدتاً شامل گلوٹنین‌ها و گلیادین‌ها است که حدود ۸۰٪ از پروتئین دانه را تشکیل می‌دهند. گلیادین‌ها حدود ۳۰٪ و گلوٹنین‌ها حدود ۵۰٪ را شامل می‌شوند (۶، ۷ و ۹). گلوٹنین‌ها پروتئین‌های پلیمری هستند که زیرواحدهای آن‌ها به وسیله پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی و درون مولکولی به یکدیگر متصل می‌شوند. این زیر واحدها در هنگام مطالعه با SDS-PAGE با شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی از یکدیگر جدا می‌شوند و در ژل پلی‌اکریل‌امید در دو گروه زیر واحدهای با وزن مولکولی زیاد^۱ و زیر واحدهای با وزن مولکولی کم^۲ قرار می‌گیرند (۱۰، ۲۰ و ۲۳).

با استفاده از سری لاین‌های نولی - سومیک، تتراسومیک، نولی تتراسومیک و دی‌تلوستریک معلوم شده است که مکان‌های ژنی کنترل‌کننده گلوٹنین‌های با وزن مولکولی زیاد بر روی بازوهای بلند کروموزوم‌های هومیولوگ گروه ۱ و نزدیک به سانترومر (ضریب نو ترکیبی $r=0.9$) قرار دارند (۷).

این مکان‌های ژنی را مشترکاً *Glu-1* و هر یک را بسته به کروموزوم مربوطه *Glu-A1*، *Glu-B1*، *Glu-D1* می‌نامند (۷، ۲۲ و ۲۵). ماکری تیچ^۱ و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که ۶۰-۵۰ درصد خاصیت نانوائی گندم توسط مکان ژنی *Glu-1* تعیین می‌گردد (۱۸). پاین و لاورنس^۲ (۱۹۸۳) برای مکان ژنی *Glu-A1* سه آلل، مکان ژنی *Glu-B1* یازده آلل و مکان ژنی *Glu-D1* شش آلل گزارش کرده‌اند (۲۱). زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی کم حدود یک سوم از کل پروتئین‌های دانه گندم و تقریباً ۶۰٪ از کل گلوٹنین‌ها را به خود اختصاص می‌دهند (۱). زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی کم به‌وسیله مکان‌های ژنی *Glu-3* واقع در بازوهای کوتاه کروموزوم‌های هومیولوگ گروه ۱ رمز می‌شوند و بر اساس قابلیت حرکت در ژل SDS-PAGE به دو نوع B و C طبقه‌بندی می‌شوند (۱۵). عدم وجود روشی مناسب برای جدا سازی گلوٹنین‌های با وزن مولکولی کم از گلیادین‌ها که دارای حلالیت یکسان و حرکت مشابه در ژل الکتروفورز هستند و هم‌چنین هم‌پوشانی نوارهای مربوط به گلوٹنین‌های با وزن مولکولی کم باعث شده است بررسی اندکی روی آن‌ها صورت گیرد (۴ و ۱۵). گوپتا و شفرد^۳ (۱۹۹۰) یک روش 1-D-SDS-PAGE دو مرحله‌ای را ارایه کردند که امکان مطالعه دقیق بر روی تنوع آلی زیر واحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی کم را در تعداد بیشتری از ارقام داده است (۱۳)، ولی گلوبولین‌ها باعث آلودگی می‌شدند. در سال ۱۹۹۱، سینک^۴ و همکاران (۱۹۹۱) یک روش ساده شده

1. Macritchie
2. Payn and Lawrance
3. Gupta and Sheferd
4. Singh

1. High molecular weight glutenin subunits (HMW-GS)
2. Low molecular weight glutenin subunits (LMW-GS)

SDS، شاخص گلوتن و پارامترهای فارینوگراف آن‌ها را بررسی کردند و همبستگی بین این خصوصیات و گلوٹنین‌ها را ارایه کردند (۱۷). این محققین هم‌چنین یک زیرواحد جدید با وزن مولکولی کم در واریته بوک کریستال گزارش کردند. رضایی (۱۳۷۵) با مطالعه زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا و خواص کیفی آرد لاین‌های هموزیگوت حاصل از تلاقی بین ۵ واریته همبستگی بالایی را بین آن‌ها گزارش کرد (۳). دوتلاسیل^۱ و همکاران (۲۰۰۲) با مطالعه گلوٹنین‌های با وزن مولکولی زیاد و خصوصیات زراعی و مورفولوژیکی تعداد ۱۲۳ توده گندم اروپایی همبستگی بالایی را بین آن‌ها به‌دست آوردند (۱۱). توحیدفر و همکاران (۱۳۷۷) گلوٹنین‌های با وزن مولکولی بالا و ارزش نانویی را در ۲۸۰ لاین پیشرفته گندم بررسی کرده و گزارش کردند که زیرواحدهای ۱، ۲*، ۱۷+۱۸، ۱۳+۱۶، ۷+۸ و ۵+۱۰ دارای ارزش بیشتری از لحاظ کیفیت نانویی نسبت به سایر زیرواحدها بودند (۲). هم‌چنین آن‌ها دو زیرواحد جدید ۵+۱۲ و ۵*+۱۲ از مکان ژنی *Glu-D1* و ۱۷+۱۹ از مکان ژنی *Glu-B1* شناسایی و معرفی کردند.

این تحقیق در جهت بررسی چند شکلی گلوٹنین‌های دانه در توده‌های گندم منطقه زنجان و مقایسه آن با سایر مناطق کشور و یافتن آلل‌های جدید و استفاده در اصلاح خواص کیفی گندم نان اجرا شده است.

مواد و روش‌ها

ژرم پلاسما مورد مطالعه در این تحقیق شامل ۳۰ نمونه بذر گندم از توده‌های بومی استان زنجان بودند

SDS-PAGE یک بعدی با استخراج متوالی را ارایه کردند که یک تجزیه بسیار مؤثر را برای هر دو زیر واحد گلوٹنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم فراهم کرد (۲۴).

پوپا^۱ و همکاران (۲۰۰۳) تعداد ۴۰ توده گندم بومی متعلق به کشور رومانی را از طریق الکتروفورز گلوٹنین‌های با وزن مولکولی زیاد مطالعه کردند و ناهمگنی و تنوع زیادی را مشاهده کردند و در کل ۲۰۲ ژنوتیپ پروتئینی را گزارش کردند (۲۲). ناگامین^۲ و همکاران (۲۰۰۰) تنوع آللی در مکان‌های ژنی *Glu-1* و *Glu-3* و خواص ویسکوالاستیک در ۸۵ واریته مربوط به جنوب ژاپن و ۶۱ لاین اصلاحی F61 را بررسی کردند و تنوع بالایی را گزارش کردند (۱۹). فلت و یوهلان^۳ (۲۰۰۳) نتایج گندم حاصل از سه تلاقی را از لحاظ گلوٹنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم و هم‌چنین گلیادین‌ها و ارتباط آن‌ها با خواص نانویی بررسی کردند و همبستگی بالایی بین این پروتئین‌ها و ویژگی‌های نانویی گزارش کردند (۱۲). ایزدی دربندی و همکاران (۱۳۸۱) الگوی نواری گلوٹنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم و هم‌چنین امگا گلیادین‌ها را در ۶۷ رقم گندم نان بررسی کردند و تعداد ۱۷ زیر واحد در سه مکان ژنی *Glu-1* و ۱۹ زیرواحد در مکان‌های ژنی *Glu-3* گزارش کردند و هم‌چنین یک آلل جدید به‌نام ۱۰*+۲** معرفی کردند (۱). لرنر^۴ و همکاران (۲۰۰۴) تنوع ژنتیکی گلوٹنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم را در واریته‌های گندم دوروم مورد کشت در آرژانتین و هم‌چنین خواص نانویی مثل رسوب

1. Popa
2. Nagamine
3. Flate and Uhlan
4. Lerner

$$۱۰۰ \times \frac{\text{فاصله نوار از مبدا به میلی متر}}{\text{فاصله نوار C مارکوئیس از مبدا به میلی متر}} = \text{حرکت نسبی نوار}$$

شاخص تنوع ژنتیکی نی در مکان‌های ژنی رمز کننده گلوٲین‌ها طبق فرمول زیر محاسبه شد(۱):

$$H = 1 - \sum P_i^2$$

P_i : فراوانی نسبی هر نوار یا زیر واحد

برای تجزیه خوشه‌ای براساس گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد از روش UPGMA و ضریب ژاکارد، در مورد گلوٲین‌های با وزن مولکولی کم از روش دورترین همسایه‌ها و ضریب تطابق ساده و برای کل گلوٲین‌ها از روش دورترین همسایه‌ها و ضریب ژاکارد استفاده شد. انتخاب روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب کوفنیتیک^۱ و کم بودن حالت زنجیره‌ای^۲ دندروگرام و هم‌چنین تمایز گندم‌های تتراپلوئید انجام شد. برای انتخاب محل برش دندروگرام از تجزیه تابع تشخیص استفاده شد.

نتایج و بحث

گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد

بر اساس نتایج حاصل از شناسایی گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد در توده‌های گندم بومی زنجان، تعداد سه توده تتراپلوئید با شماره‌های TN-۱۱۳۷۲، TN-۱۱۷۳۴ و TN-۱۱۷۴۳ شناسایی شدند که فاقد آلل در مکان ژنی *Glu-D1* بودند. نمونه‌ای از آن‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. در مکان ژنی *Glu-I* در کل ۱۱ نوع آلل و ۱۶ نوع زیر واحد با وزن مولکولی زیاد در گندم‌های منطقه زنجان یافت شد. در مکان ژنی *Glu-A1*، ۸۳/۳۳ درصد از نمونه‌ها دارای آلل نول و ۱۶/۶۷ درصد واجد آلل^{۳*} بودند و آلل ۱ در هیچ یک از توده‌ها مشاهده نشد.

که از بانک ژن گیاهی ملی ایران واقع در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردیدند که شماره نمونه‌ها در جدول ۱ آمده است.

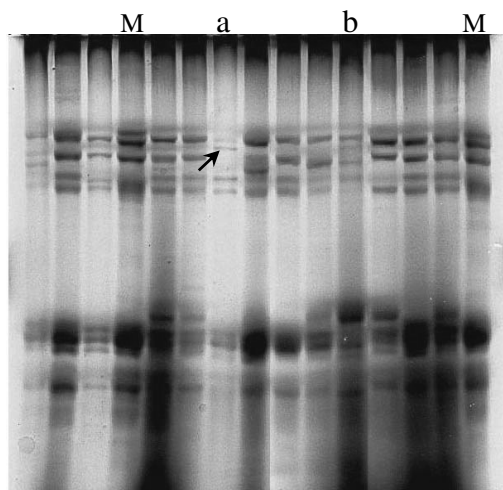
برای استخراج گلوٲین‌ها از روش استخراج متوالی^۱ استفاده شد (۲۴). از هر نمونه گندم ۳ عدد بذر سالم انتخاب شد و پس از کوبیدن در هاون چینی، از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شد تا پوسته جدا شود. ابتدا گلیادین‌ها (محلول در الکل) استخراج و حذف شدند و سپس گلوٲین‌ها استخراج و مورد مطالعه قرار گرفتند.

برای تجزیه نمونه‌ها از روش SDS-PAGE ارایه شده توسط لایملی^۲ (۱۹۷۰)، ژل اکریل آمید ۱۰٪ و جریان ۳۰ میلی‌آمپر به مدت حدود ۵ ساعت استفاده گردید (۱۶). از هر نمونه پروٲینی ۲۰ میکرولیتر در چاهک‌ها بارگذاری شد. عمل رنگ‌آمیزی ژل با محلول حاوی ۴٪ آبی کوماسی، ۶٪ TCA، ۲۵٪ متانول و ۸/۸٪ اسید استیک انجام گرفت. رنگ‌بری از ژل‌ها با محلول ۱۰٪ TCA و عمل تثبیت با محلول ۷٪ اسید استیک انجام گرفت (۴، ۵ و ۷).

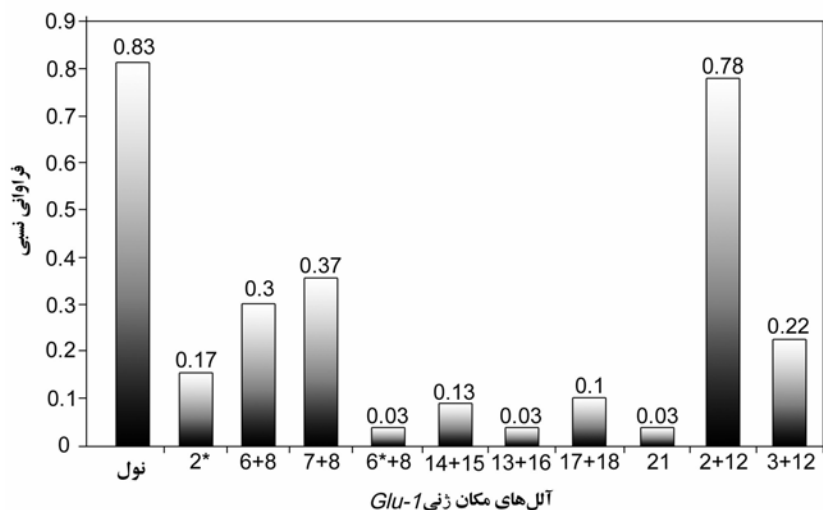
برای تشخیص گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد از رقم استاندارد مارکوئیس که دارای زیر واحدهای با وزن مولکولی زیاد شناخته شده است (۱، ۷+۹ و ۱۰+۵) استفاده شد. شناسایی این زیر واحدها با استفاده از سیستم عددی پایین و لاورنس (۱۹۸۳) صورت گرفت (۲۱). در این مورد حرکت نسبی نوارها نسبت به نوار با وزن مولکولی کم نوع C رقم مارکوئیس (شکل ۳) که در همه ژل‌ها قابل تشخیص بود، محاسبه شد و به صورت وجود یا عدم وجود نوار مشخص شدند.

1. Cophenetic coefficient
2. Chaining

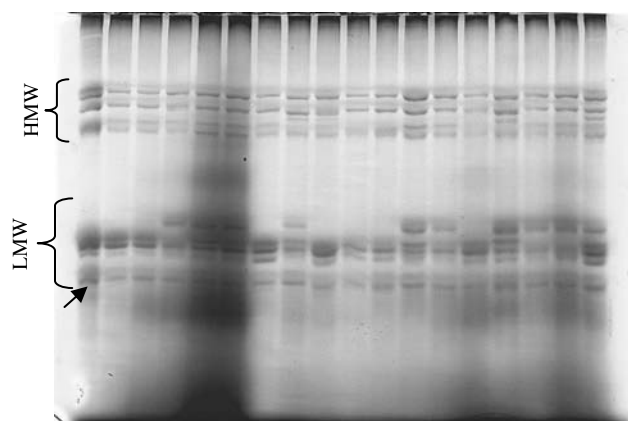
1. Sequential extraction
2. Laemmli



شکل ۱- الگوی نواریندی توده‌های گندم. M: رقم مارکوئیس، a: نمونه شماره ۱۱۳۸۴ - TN که زیر واحد ۶* با پیکان نشان داده شده است. b: نمونه تتراپلوئید شماره ۱۱۷۴۳ - TN.



نمودار ۲- فراوانی نسبی آلل‌های مکان‌زنی *Glu-1* در توده‌های بومی گندم زنجان



شکل ۳- نمونه‌ای دیگر از ژل SDS-PAGE که در آن نوار مرجع نوع C مارکوئیس با پیکان نشان داده شده است.

جدول ۱- آلل‌های مکان‌زنی *Glu-1* در نمونه‌های

مورد مطالعه و امتیاز نانوبی آن‌ها

شماره نمونه	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	ارزش نانوبی
TN-۱۱۳۶۷	نول	۱۴+۱۵	۲+۱۲	۹+۲
TN-۱۱۳۶۸	نول	۶+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۶۹	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۷۰	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۷۱	نول	۶+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۷۲	۲*	۱۴+۱۵	-	۳+۴
TN-۱۱۳۷۴	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۷۷	نول	۷+۸	۳+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۷۸	نول	۶+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۷۹	نول	۱۳+۱۶	۳+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۸۰	۲*	۶+۸	۳+۱۲	۳+۱+۲=۶
TN-۱۱۳۸۱	نول	۶+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۸۲	نول	۶+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۸۴	نول	۶*+۸	۲+۱۲	۹+۲
TN-۱۱۳۸۵	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۸۹	۲*	۷+۸	۲+۱۲	۳+۳+۲=۸
TN-۱۱۳۹۰	نول	۶+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۷۳۰	نول	۱۷+۱۸	۳+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷۳۱	نول	۱۷+۱۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷۳۲	نول	۶+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۷۳۳	نول	۲۱	۳+۱۲	۹+۲
TN-۱۱۷۳۴	۲*	۱۴+۱۵	-	۳+۴
TN-۱۱۷۳۵	نول	۱۴+۱۵	۳+۱۲	۹+۲
TN-۱۱۷۳۶	نول	۶+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۷۳۷	نول	۱۷+۱۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷۳۸	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷۳۹	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷۴۰	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷۴۲	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷۴۳	۲*	۷+۸	-	۳+۳=۶

آذربایجان‌غربی فراوانی آلل نول ۱۵٪ و فراوانی آلل ۲*، ۸۵ درصد بوده است. با وجود این در هیچ یک از توده‌ها آلل ۱ مشاهده نشد. افزون بر این، سفالیان (۱۳۷۸) نیز با بررسی گلوٲنین‌های با وزن مولکولی زیاد در توده‌های بومی آذربایجان‌غربی فراوانی آلل ۲* را ۴۰ درصد و فراوانی آلل نول را ۶۰ درصد گزارش کرد (۴). هم‌چنین زیرواحد ۱ در هیچ یک از توده‌های گندم آذربایجان‌غربی نیز مشاهده نشد.

نجفیان و همکاران (۱۳۷۶) با مطالعه گلوٲنین‌های با وزن مولکولی زیاد در ارقام اصلاح شده گندم فراوانی آلل‌های ۱، ۲* و نول را به ترتیب ۳۹، ۴۳ و ۱۸ درصد گزارش کردند (۸). پوپا و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی ۴۰ توده گندم بومی کشور رومانی عنوان کردند که آلل نول دارای بیشترین فراوانی است (۲۲).

در مکان ژنی *Glu-B1*، ۷ نوع ترکیب آلی یافت شد. آلل‌های ۶+۸ و ۷+۸ به ترتیب با فراوانی‌های ۳۰ درصد و ۳۶/۶۷ درصد دارای بیشترین فراوانی در توده‌های بومی منطقه زنجان بودند و کمترین فراوانی هم مربوط به آلل‌های ۱۳+۱۶ و ۲۱ بود که در ۳/۳۳ درصد توده‌ها مشاهده شد. سفالیان (۱۳۷۸) نیز بیشترین فراوانی را در توده‌های آذربایجان‌غربی در مورد آلل‌های ۶+۸ و ۷+۸ گزارش کرده است (۴) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. آلل ۷+۹ در توده‌های بومی زنجان مشاهده نشد، در حالی‌که سفالیان (۱۳۷۸) فراوانی این آلل را در گندم‌های آذربایجان‌غربی ۵ درصد گزارش کرده است (۴). به نظر می‌رسد که این آلل در توده‌های بومی مناطق شمال غرب کشور فراوانی کمتری دارد. پوپا و همکاران (۲۰۰۳) بیشترین فراوانی را در گندم‌های بومی رومانی به آلل ۷+۹ نسبت دادند (۲۲). مشاهده

شهبازی (۱۳۷۸) با مطالعه گلوٲنین‌های با وزن مولکولی زیاد نتایج متفاوتی در گندم‌های دو استان آذربایجان‌شرقی و غربی گزارش کرده است (۵). وی مشاهده کرد که ۷۵ درصد توده‌های گندم آذربایجان‌شرقی دارای آلل نول و ۲۵ درصد واجد آلل ۲* هستند، در حالی‌که در توده‌های گندم

در مکان ژنی *Glu-D1* دو نوع آلل ۱۲+۲ و ۱۲+۳ با فراوانی‌های ۷۷/۷۸ و ۱۲/۲۲ درصد در نمونه‌های هگزا پلوئید شناسایی شدند. فراوانی سایر آلل‌های مکان ژنی *Glu-1* در نمودار ۲ نشان داده شده است.

ارزش نانوایی نمونه‌ها براساس امتیاز نانوایی ارایه شده توسط پاین و لاورنس (۱۹۸۳) محاسبه شد که در جدول ۱ آمده است (۲۱). ۲۶/۶۷ درصد از نمونه‌ها امتیاز ۳، ۴۳/۳۳ درصد امتیاز ۵، ۶/۶۷ درصد امتیاز ۶ و ۳/۳۳ درصد امتیاز ۸ داشتند. امتیاز بقیه نمونه‌ها به دلیل مشخص نبودن ارزش آلل‌هایشان محاسبه نشد.

الکتروفورگرام گلوٲتین‌های با وزن مولکولی کم

در کل ۱۲ نوار با زیر واحد گلوٲتین با وزن مولکولی کم با قابلیت حرکت نسبی مختلف شناسایی شدند که همه آن‌ها دارای تنوع بودند. نوارهای گلوٲتین با وزن مولکولی کم به همراه فراوانی آن‌ها در توده‌های بومی مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است. نوار با حرکت نسبی ۸۸ بیشترین فراوانی را داشت که در ۹۰ درصد توده‌ها مشاهده شد و نوارهای با حرکت نسبی ۱۰۴ و ۱۰۷ با فراوانی ۳/۳۳ درصد دارای کمترین فراوانی بودند.

میزان تنوع ژنتیکی در مکان‌های ژنی رمزکننده

گلوٲتین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم

شاخص تنوع ژنتیکی نی در مکان‌های ژنی مورد نظر در جدول ۳ درج شده است. میزان تنوع ژنتیکی در مکان‌های ژنی *Glu-1* از نظر اهمیت به صورت زیر بود:

$$Glu-B1 > Glu-D1 > Glu-A1$$

می‌شود که الگوی پروتئینی مناطق مختلف می‌تواند متفاوت باشد. یک زیر واحد جدید در مکان ژنی *Glu-B1* در نمونه گندم با شماره TN-۱۱۳۸۴ شناسایی و به نام ۶* نام‌گذاری شد (شکل ۱).

جدول ۲- نوارهای LMW براساس حرکت نسبی و فراوانی آن‌ها در توده های گندم مورد مطالعه

فراوانی (درصد)		حرکت نسبی LMW
نوع B		
۶/۶۷	۷۸/۷	
۳۰	۷۹/۵	
۱۶/۶۷	۸۰/۵	
۶۶/۶۷	۸۴/۵	
۹۰	۸۸	
۱۰	۸۹	
۶۶/۶۷	۹۰/۵	
۲۰	۹۲	
نوع C		
۸۶/۶۷	۱۰۰	
۱۰	۱۰۱	
۳/۳۳	۱۰۴	
۳/۳۳	۱۰۷	

جدول ۳- میزان تنوع ژنتیکی مکان‌های ژنی

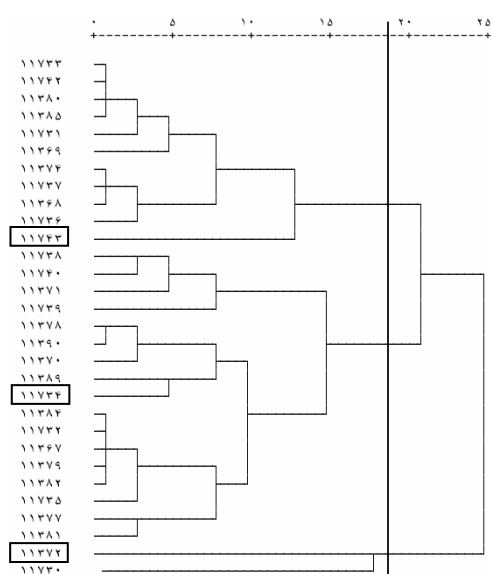
رمزکننده گلوٲتین‌های با وزن مولکولی زیاد

و کم در گندم‌های بومی مورد مطالعه

مقادیر شاخص تنوع مکان‌های ژنی

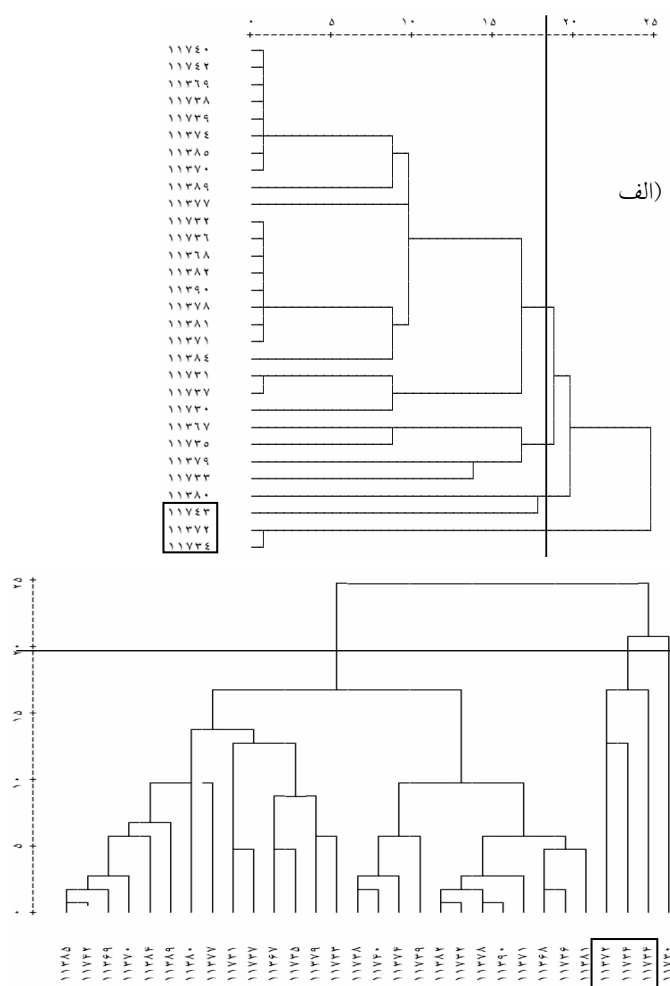
ژنتیکی نی (H)

<i>Glu-1</i>	۰/۸۷۵
<i>Glu-A1</i>	۰/۲۷۸
<i>Glu-B1</i>	۰/۸
<i>Glu-D1</i>	۰/۵۸۶
<i>Glu-3</i>	۰/۸۴۴



(ب)

شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای براساس (الف) گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد، (ب) گلوٲین‌های با وزن مولکولی کم و (ج) کل گلوٲین‌ها. توده‌های تتراپلوئید داخل کادر نشان داده شده‌اند.



(ج)

شکل ۴ آمده است. تجزیه خوشه‌ای نمونه‌ها از لحاظ گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد (شکل ۴- الف) نمونه‌های گندم را در چهار گروه قرار داد. نکته قابل توجه این است که این تجزیه تقریباً توانسته است نمونه‌های تتراپلوئید را از بقیه جدا کند. شهبازی (۱۳۷۸) و سفالیان (۱۳۷۸) نیز امکان تمایز نمونه‌های تتراپلوئید بر اساس گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد را گزارش کرده‌اند (۴، ۵). تجزیه خوشه‌ای بر اساس گلوٲین‌های با وزن مولکولی کم (شکل ۴- ب)، نمونه‌ها را در سه گروه قرار داد ولی این تجزیه نتوانست گندم‌های تتراپلوئید را مجزا کند. تجزیه خوشه‌ای براساس وجود یا عدم وجود نوارهای

مشاهده می‌شود که میزان تنوع در مکان ژنی رمز کننده گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد (*Glu-1*) اندکی بالاتر از مکان ژنی رمز کننده گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد (*Glu-3*) می‌باشد، درحالی‌که دربندی و همکاران (۱۳۸۱) با مطالعه گلوٲین‌های ارقام گندم، میزان شاخص تنوع ژنتیکی را در مکان ژنی *Glu-3* بیشتر از مکان ژنی *Glu-1* گزارش نمودند (۱).

تجزیه خوشه‌ای گندم‌های منطقه زنجان بر اساس گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم
نتایج تجزیه خوشه‌ای بر اساس گلوٲین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم به‌طور جداگانه و توأم در

توده‌های بومی مورد مطالعه فراوانی آلل نول که از لحاظ خواص نانوائی ارزش کمتری دارد، بیشتر است. بنابراین می‌توان اظهار داشت که توده‌های بومی تحت گزینش طبیعی تکامل یافته‌اند و هیچ‌گونه گزینش مصنوعی از لحاظ کیفیت نانوائی روی آن‌ها صورت نگرفته است، ولی در ارقام اصلاح شده به‌علت فشار گزینش مصنوعی آلل‌های با ارزش مانند آلل ۱ فراوانی بیشتری دارند.

گلوٲنین با وزن مولکولی کم و زیاد (شکل ۴- ج) به‌طور مناسب گندم‌های تتراپلوئید را مجزا کرده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که اولاً با مطالعه پروٲنین‌های ذخیره‌ای دانه گندم احتمال تمایز سطوح پلوئیدی مختلف وجود دارد. ثانیاً با افزایش سطح ژنومی تحت مطالعه می‌توان سطوح پلوئیدی را از یکدیگر بهتر تشخیص داد. هم‌چنین مشخص گردید که در بین

منابع

- ۱- ایزدی دربندی، ع.، ب. یزدی صمدی، س. عبد میثانی، ع. شاه نجات بوشهری و ف. شهریار. ۱۳۸۱. بررسی پلی مورفیسیم الکتروفورزی ارقام گندم نان از نظر زیر واحدهای گلوٲنین با وزن مولکولی پایین. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۳، شماره ۱، ۴۷-۳۷.
- ۲- توحیدفر، ق.، س. عبد میثانی، و ب. یزدی صمدی. ۱۳۷۷. تعیین رابطه پروٲین‌های ذخیره‌ای دانه (گلوٲنین) با ارزش نانوائی لاین‌های پیشرفته گندم از طریق تکنیک الکتروفورز. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۲۹، شماره ۳، ۶۱۵-۶۰۷.
- ۳- رضایی، ع. ۱۳۷۵. رابطه بین کیفیت آرد و زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا در گندم. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۲۷، شماره ۱، صفحات ۲۱-۱۱.
- ۴- سفالیان، ا. ۱۳۷۸. بررسی پروٲین‌های ذخیره‌ای گندم‌های بومی آذربایجان غربی و ارتباط آن‌ها با طیف پروٲینی خویشاوندان وحشی گندم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، ۷۰ صفحه.
- ۵- شهبازی، ح. ۱۳۷۸. بررسی خاصیت نانوائی گندم‌های بومی آذربایجان از طریق الکتروفورز پروٲین‌ها و ارتباط آن با صفات زراعی و کمی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، ۶۷ صفحه.
- ۶- عبد میثانی، س. و ع. شاه نجات بوشهری. ۱۳۷۲. اصلاح نباتات تکمیلی (جلد دوم) بیوتکنولوژی گیاهی. چاپ اول. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۶۹-۱۴۳.
- ۷- گرامی، ب. ۱۳۷۲. استفاده از الکتروفورز در اصلاح گندم. اولین گنگره زراعت و اصلاح نباتات. انتشارات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، ۲۶۹-۲۴۳.
- ۸- نجفیان، گ.، س. عبد میثانی و ب. یزدی صمدی. ۱۳۷۶. تأثیر تنوع آلی زیر واحدهای گلوٲنین دارای وزن مولکولی زیاد در ارزش نانوائی لاین‌های به‌نژادی گندم نان، مجله علوم کشاورزی، جلد ۲۸، شماره ۳، ۱۲-۱.
9. Bushuk, W. and R. R. Zillman. 1977. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus method and nomenclature. Canadian Journal of Plant Science 58: 505-515.

10. Carrillo, J. M., M. Rousset, C. O. Qualset and D. D. Kasarda. 1990. Use of recombinant inbred lines of wheat for study of associations of high molecular weight glutenin subunit alleles to quantitative traits. 1. Grain yield and quality prediction tests. *Theoretical Applied Genetic* 79:321-330.
11. Dotlacil, L., E. Gregova, J. Hermuth, Z. Stehno and J. Kraic. 2002. Diversity of HMW-Glu alleles and evaluation of their effects on some characters in winter wheat landraces and old cultivars. *Czech Journal of Genetically Plant Breeding*. 38(34):109-116.
12. Flate, N. E. S. and A. K. Uhlan. 2003. Association between allelic variation at the combined Gli-1, Glu-3 loci and protein quality in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science* 37:129-137.
13. Gupta, R. B. and K. W. Shepherd. 1990. Two-step one dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. 1. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats. *Theoretical Applied Genetic* 80:65-74.
14. Halford, N. G., J. M. Field, H. P. Blair, K. Moore, L. Robert, R. Thompson, R. B. Falvell, A. S. Tatham and P. R. Shewry. 1992. Analysis of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) indicates quantitative effects on grain quality. *Theoretical Applied Genetic* 83:373-378.
15. Jackson, E. A., L. M. Holt and P. I. Payne. 1983. Characterization of high molecular weight glutenin and low molecular weight glutenin subunits of wheat endosperm by two dimensional electrophoresis and the chromosomal localization of their controlling genes. *Theoretical Applied Genetic* 66:29-37.
16. Laemmli, U.K. 1970. SDS-PAGE. *Nature* 227:680-685.
17. Lerner, S. E., M. Cogliatti, N. R. Poniza, M. L. Seghezzo, E. R. Molfese and W. J. Rojers. 2004. Genetic variation for grain protein components and industrial quality of durum wheat cultivars sown in Argentina. *Journal of Cereal Science* (In press).
18. Macritchie, F., D. L. Du Crose and C. W. Wriley. 1990. Flour polypeptides related to wheat quality. *Advanced Cereal Science Technology* 10:79-145.
19. Nagamine, T., Y. Kai, T. Takayama, T. Yanagisava and S. Taya. 2000. Allelic variation at the Glu-1 and Glu-3 loci in southern Japanese wheats and it's effects on gluten properties. *Journal of Cereal Science* 32:129-135.
20. NG., P. K. W., E. Slominisk, W. J. Johanson and W. Bushuk. 1991. Changes in wheat endosperm proteins during grain maturation. In: Bushuk, W. and Tkachuk, R. (Eds.), *Gluten proteins*. American Association of Cereal Chemistry 5:37-47.
21. Payn, P. I. and G. J. Lawrance. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communication* 11:29-35.
22. Popa, M., E. Gregova and J. Kraic. 2003. Romanian wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces characterized by seed storage proteins electrophoresis. *Plant Genetic News letter* 135:53-58.
23. Shewry, P. R., A. S. Tatham, J. Forde, M. Kreis and B. J. Miflin. 1996. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment, *Journal of Cereal Science* 4:97-106.
24. Singh, N. K., K. W. Shepherd and G. B. Cornish. 1991. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science* 14:203-208.
25. Tanaka, H., M. Tomita, H. Tsujimoto and Y. Yasumuro. 2003. Limited but specific variations of seed storage proteins in Japanese common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 132:167-174.