بررسی تنوع ژنتیکی گلوتنین‌های تعدادی از توده‌های گندم بومی منطقه زنجان

آرش محمدی[1]، مصطفی ولیزاده[2]، محمد مقدم[2]، یوسف ارشد[3]، ندا جوادیان[4] و ناصر محبعلی‌پور[5]

چکیده

به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی پروتئین‌های 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 گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و گلوتنین‌های با وزن مولکولی کم از طریق SDS-PAGE با روش استخراج متوالی انجام گرفت. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه گلوتنین‌های 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 ۸+۷ با ۳۶/۶۷ درصد دارای بیشترین فراوانی بوده و آلل‌های ۱۶+۱۳ 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 ۱۲+۲ بود که در ۷۷/۷۸ درصد آن‌ها مشاهده شد و در بقیه آلل ۱۲+۳ تشخیص داده شد. در مکان ژنی *Glu-3* در کل ۱۲ نوار گلوتنین 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 پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه می‌توان در تشخیص ارقام، سطح پلوئیدی آن‌ها و انجام آزمون‌های نانوایی در جهت اصلاح خواص کیفی گندم استفاده کرد.

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

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۷/٤/۱۲

۱- پژوهشگر ایستگاه تحقیقات زیتون طارم

۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

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

٤- پژوهشگر پژوهشکده فیزیولوژی و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۵- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه

مقدمه و بررسی منابع

یکی از صفات مورد توجه در اصلاح کیفی گندم، ارزش نانوایی 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 نانوایی 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 نانوایی، نوع پروتئین آندوسپرم آن‌ها است (۷).

پروتئین آندوسپرم دانه گندم عمدتاً شامل گلوتنین‌ها و گلیادین‌ها است که حدود ۸۰٪ از پروتئین دانه را تشکیل می‌دهند. گلیادین‌ها حدود ۳۰٪ و گلوتنین‌ها حدود۵۰٪ را شامل می‌شوند (۶،۷و۹). گلوتنین‌ها پروتئین‌های پلیمری هستند که زیرواحدهای آن‌ها به وسیله پیوندهای دی سولفیدی 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 پلی اکریل آمید در دو گروه زیر واحدهای با وزن مولکولی زیاد[1] و زیر واحدهای با وزن مولکولی کم[2] قرار می‌گیرند (۱۰،۲۰و۲۳).

با استفاده از سری لاین‌های نولی ـ سومیک، تتراسومیک، نولی تتراسومیک و دی‌تلوسنتریک معلوم شده است که مکان‌های ژنی کنترل کننده گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد بر روی بازوهای بلند کروموزوم‌های هومیولوگ گروه ۱ و نزدیک به سانترومر (ضریب نو ترکیبی r=۹٪) قرار دارند (۷).

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

این مکان‌های ژنی را مشترکاً *Glu-1* و هر یک را بسته به کروموزوم مربوطه *Glu-A1*، *Glu-B1*، *Glu-D1* می‌نامند (۷،۲۲و۲۵). ماکری‌تیچ[1] و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که ۶۰-۵۰ درصد خاصیت نانوایی گندم توسط مکان ژنی *Glu-1* تعیین می‌گردد (۱۸). پاین و لاورنس[2] (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 گلوتنین با وزن مولکولی کم حدود یک سوم از کل پروتئین‌های دانه گندم و تقریباً ۶۰٪ از کل گلوتنین‌ها را به خود اختصاص می‌دهند (۱). زیرواحدهای گلوتنین 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 گلوتنین‌های با وزن مولکولی کم از گلیادین‌ها که دارای حلالیت یکسان و حرکت مشابه در ژل الکتروفورز هستند و هم‌چنین هم‌پوشانی نوارهای مربوط به گلوتنین‌های با وزن مولکولی کم باعث شده است بررسی اندکی روی آن‌ها صورت گیرد (۱۴و۱۵). گوپتا و شفرد[3] (۱۹۹۰) یک روش 1-D-SDS-PAGE دو مرحله‌ای را ارایه کردند که امکان مطالعه دقیق بر روی تنوع آللی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی کم را در تعداد بیشتری از ارقام داده است (۱۳)، ولی گلوبولین‌ها باعث آلودگی می‌شدند. در سال ۱۹۹۱، سینک[4] و همکاران (۱۹۹۱) یک روش ساده شده

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

SDS-PAGE یک بعدی با استخراج متوالی را ارایه کردند که یک تجزیه بسیار مؤثر را برای هر دو زیر واحد گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم فراهم کرد (۲٤).

پوپا[1] و همکاران (۲۰۰۳) تعداد٤٠ توده گندم بومی متعلق به کشور رومانی را از طریق الکتروفورز گلوتنین‌های 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[2] و همکاران (۲۰۰۰) تنوع آللی در مکان‌های ژنی *Glu-1* و *Glu-3* و خواص ویسکوالاستیک در ۸۵ واریته مربوط به جنوب ژاپن و ٦١ لاین اصلاحی F٦ را بررسی کردند و تنوع بالایی را گزارش کردند (۱۹). فلت و یوهلان[3] (۲۰۰۳) نتاج گندم حاصل از سه تلاقی را از لحاظ گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم و هم‌چنین گلیادین‌ها و ارتباط آن‌ها با خواص نانوایی بررسی کردند و همبستگی بالایی بین این پروتئین‌ها و ویژگی‌های نانوایی گزارش کردند (۱۲). ایزدی دربندی و همکاران (۱۳۸۱) الگوی نواری گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم و هم‌چنین امگا گلیادین‌ها را در ٦٧ 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 $2^{**}+10^{*}$ معرفی کردند (۱). لرنر[4] و همکاران (۲۰۰٤) تنوع ژنتیکی گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم را در واریته‌های گندم دوروم مورد کشت در آرژانتین و هم‌چنین خواص نانوایی مثل رسوب SDS، شاخص گلوتن و پارامترهای فارینوگراف آن‌ها را بررسی کردند و همبستگی بین این خصوصیات و گلوتنین‌ها را ارایه کردند (۱۷). این محققیق هم‌چنین یک زیرواحد جدید با وزن مولکولی کم در واریته بوک کریستال گزارش کردند. رضایی (۱۳۷۵) با مطالعه زیرواحدهای گلوتنین 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[1] و همکاران (۲۰۰۲) با مطالعه گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و خصوصیات زراعی و مورفولوژیکی تعداد۱۲۳ توده گندم اروپایی همبستگی بالایی را بین آن‌ها به‌دست آوردند (۱۱). توحیدفر و همکاران (۱۳۷۷) گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا و ارزش نانوایی را در ۲۸۰ لاین پیشرفته گندم بررسی کرده و گزارش کردند که زیرواحدهای ۱، 2^{*}، ۱۸+۱۷، ۱٦+۱۳، ۸+۷ و ۱۰+۵ دارای ارزش بیشتری از لحاظ کیفیت نانوایی نسبت به سایر زیرواحدها بودند (۲). هم‌چنین آن‌ها دو زیرواحد جدید ۱۲+۵ و 5^{*}+۱۲ از مکان ژنی *Glu-D1* و ۱۹+۱۷ از مکان ژنی *Glu-B1* شناسایی و معرفی کردند.

این تحقیق در جهت بررسی چند شکلی گلوتنین‌های دانه در توده های 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 پلاسم مورد مطالعه در این تحقیق شامل ۳۰ نمونه بذر گندم از توده‌های بومی استان زنجان بودند

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

1. Dotlacil

که از بانک ژن گیاهی ملی ایران واقع در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردیدند که شماره نمونه‌ها در جدول۱ آمده است.

برای استخراج گلوتنین‌ها از روش استخراج متوالی[1] استفاده شد (٢٤). از هرنمونه 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 گلوتنین‌ها استخراج و مورد مطالعه قرار گرفتند.

برای تجزیه نمونه‌ها از روش SDS-PAGE ارایه شده توسط لایملی[2] (۱۹۷۰)، ژل اکریل آمید ۱۰٪ و جریان ۳۰ میلی‌آمپر به مدت حدود ۵ ساعت استفاده گردید (١٦). از هر نمونه پروتئینی ۲۰ میکرولیتر در چاهک‌ها بارگذاری شد. عمل رنگ‌آمیزی ژل با محلول حاوی ٤٪ آبی کوماسی، ٦٪ TCA، ۲۵٪ متانول و ۸/۸٪ اسید استیک انجام گرفت. رنگ‌بری از ژل‌ها با محلول۱۰٪TCA و عمل تثبیت با محلول ۷٪ اسید استیک انجام گرفت (٥،٤ و۷).

برای تشخیص گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد از رقم استاندارد مارکوئیس که دارای زیر واحدهای با وزن مولکولی زیاد شناخته شده است (۱، ۹+۷ و۱۰+۵) استفاده شد. شناسایی این زیر واحدها با استفاده از سیستم عددی پاین و لاورنس (۱۹۸۳) صورت گرفت (۲۱). در این مورد حرکت نسبی نوارها نسبت به نوار با وزن مولکولی کم نوع C رقم مارکوئیس (شکل۳) که در همه ژل‌ها قابل تشخیص بود، محاسبه شد و به صورت وجود یا عدم وجود نوار مشخص شدند.

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

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

H: شاخص تنوع ژنتیکی نی $H = 1 - \sum P_i^2$

P_i: فراوانی نسبی هر نوار یا زیر واحد

برای تجزیه خوشه‌ای براساس گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد از روش UPGMA و ضریب ژاکارد، در مورد گلوتنین‌های با وزن مولکولی کم از روش دورترین همسایه‌ها و ضریب تطابق ساده و برای کل گلوتنین‌ها از روش دورترین همسایه‌ها و ضریب ژاکارد استفاده شد. انتخاب روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب کوفنیتیک[1] و کم بودن حالت زنجیره‌ای[2] دندروگرام و هم‌چنین تمایز گندم‌های تتراپلوئید انجام شد. برای انتخاب محل برش دندروگرام از تجزیه تابع تشخیص استفاده شد.

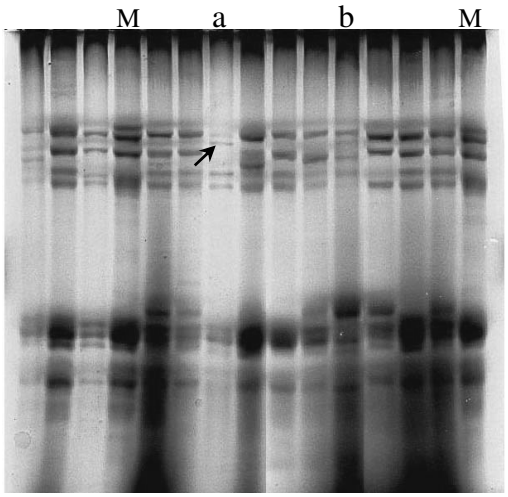
نتایج و بحث

گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد

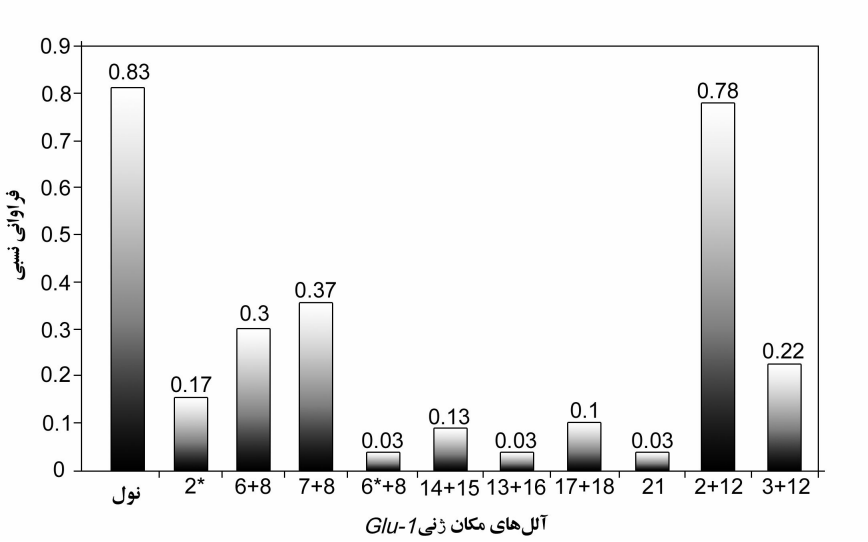
بر اساس نتایج حاصل از شناسایی گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد در توده‌های گندم بومی زنجان، تعداد سه توده تتراپلوئید با شماره‌های TN-۱۱۳۷۲، TN-۱۱۷۳٤ و TN-۱۱۷٤۳ شناسایی شدند که فاقد آلل در مکان ژنی *Glu-D1* بودند. نمونه‌ای از آن‌ها در شکل۱ نشان داده شده است. در مکان ژنی *Glu-1* در کل ۱۱ نوع آلل و ١٦ نوع 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 ١٦/٦٧ درصد واجد آلل *۲ بودند و آلل ۱ در هیچ یک از توده‌ها مشاهده نشد.

1. Sequential extraction
2. Laemmli

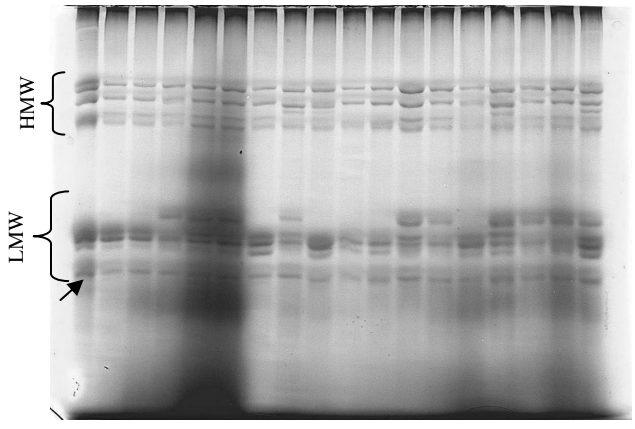
1. Cophenetic coefficient
2. Chaining



شکل۱- الگوی نواربندی توده‌های گندم. M: رقم مارکوئیس، a: نمونه شماره ۱۱۳۸٤- TN که زیرواحد *٦ با پیکان نشان داده شده است. b: نمونه تتراپلوئید شماره ۱۱۷٤۳ – TN.



نمودار۲- فراوانی نسبی آلل‌های مکان‌زنی *Glu-1* در توده‌های بومی گندم زنجان



شکل۳- 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 نانوایی آن‌ها

شماره نمونه	*Glu-A1*	*Glu-B1*	*Glu-D1*	ارزش نانوایی
TN-۱۱۳٦۷	نول	۱٤+۱۵	۲+۱۲	؟+۲
TN-۱۱۳٦۸	نول	٦+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳٦۹	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۷۰	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN -۱۱۳۷۱	نول	٦+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۷۲	۲*	۱٤+۱۵	–	۳+؟
TN-۱۱۳۷٤	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۷۷	نول	۷+۸	۳+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۷۸	نول	٦+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۷۹	نول	۱۳+۱٦	۳+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۳۸۰	۲*	٦+۸	۳+۱۲	۳+۱+۲=٦
TN-۱۱۳۸۱	نول	٦+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۸۲	نول	٦+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۳۸٤	نول	٦*+۸	۲+۱۲	؟+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	٦+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	٦+۸	۲+۱۲	۱+۲=۳
TN-۱۱۷۳۳	نول	۲۱	۳+۱۲	؟+۲
TN-۱۱۷۳٤	۲*	۱٤+۱۵	–	۳+؟
TN-۱۱۷۳۵	نول	۱٤+۱۵	۳+۱۲	؟+۲
TN-۱۱۷۳٦	نول	٦+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-۱۱۷٤۰	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷٤۲	نول	۷+۸	۲+۱۲	۳+۲=۵
TN-۱۱۷٤۳	۲*	۷+۸	–	۳+۳=٦

شهبازی (۱۳۷۸) با مطالعه گلوتنین‌های 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 و۲۵ درصد واجد آلل*۲ هستند، در حالی‌که در توده‌های گندم 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 گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد در توده‌های بومی آذربایجان غربی فراوانی آلل *۲ را ٤۰ درصد و فراوانی آلل نول را ٦۰ درصد گزارش کرد (٤). هم‌چنین زیرواحد ۱ در هیچ یک از توده‌های گندم آذربایجان‌غربی نیز مشاهده نشد.

نجفیان و همکاران (۱۳۷٦) با مطالعه گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد در ارقام اصلاح شده گندم فراوانی آلل‌های ۱، *۲ و نول را به‌ترتیب ۳۹، ٤۳ و ۱۸ درصد گزارش کردند (۸). پوپا و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی ٤۰ توده گندم بومی کشور رومانی عنوان کردند که آلل نول دارای بیشترین فراوانی است (۲۲).

در مکان ژنی *Glu-B1*، ۷ نوع ترکیب آللی یافت شد. آلل‌های ۸+٦ و ۸+۷ به‌ترتیب با فراوانی‌های ۳۰ درصد و ۳٦/٦۷ درصد دارای بیشترین فراوانی در توده‌های بومی منطقه زنجان بودند و کمترین فراوانی هم مربوط به آلل‌های ۱٦+۱۳ و ۲۱ بود که در ۳/۳۳ درصد توده‌ها مشاهده شد. سفالیان (۱۳۷۸) نیز بیشترین فراوانی را در توده‌های آذربایجان‌غربی در مورد آلل‌های ۸+٦ و ۸+۷ گزارش کرده است (٤) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. آلل ۹+۷ در توده‌های بومی زنجان مشاهده نشد، در حالی‌که سفالیان (۱۳۷۸) فراوانی این آلل را در گندم‌های آذربایجان غربی ۵ درصد گزارش کرده است (٤). به‌نظر 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 ۹+۷ نسبت دادند (۲۲). مشاهده

می‌شود که الگوی پروتئینی مناطق مختلف می‌تواند متفاوت باشد. یک زیر واحد جدید در مکان ژنی *Glu-B1* در نمونه گندم با شماره TN-۱۱۳۸٤ شناسایی و به‌نام *٦ نام‌گذاری شد (شکل ۱).

جدول۲- نوارهای LMW براساس حرکت نسبی و فراوانی آن‌ها در توده های گندم مورد مطالعه

حرکت نسبی LMW	فراوانی (درصد)
نوع B	
۷۸/۷	٦/٦٧
۷۹/۵	۳۰
۸۰/۵	۱٦/٦٧
۸٤/۵	٦٦/٦٧
۸۸	۹۰
۸۹	۱۰
۹۰/۵	٦٦/٦٧
۹۲	۲۰
نوع C	
۱۰۰	۸٦/٦٧
۱۰۱	۱۰
۱۰٤	۳/۳۳
۱۰۷	۳/۳۳

جدول۳- میزان تنوع ژنتیکی مکان‌های ژنی رمزکننده گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم در گندم‌های بومی مورد مطالعه

مکان‌های ژنی	مقادیر شاخص تنوع ژنتیکی نی (H)
Glu-1	۰/۸۷۵
Glu-A1	۰/۲۷۸
Glu-B1	۰/۸
Glu-D1	۰/۵۸٦
Glu-3	۰/۸٤٤

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 نمودار۲ 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). ۲٦/٦٧ درصد از نمونه‌ها امتیاز ۳، ٤۳/۳۳ درصد امتیاز ۵، ٦/٦٧ درصد امتیاز ٦ و ۳/۳۳ درصد امتیاز ۸ داشتند. امتیاز بقیه نمونه‌ها به دلیل مشخص نبودن ارزش آلل‌هایشان محاسبه نشد.

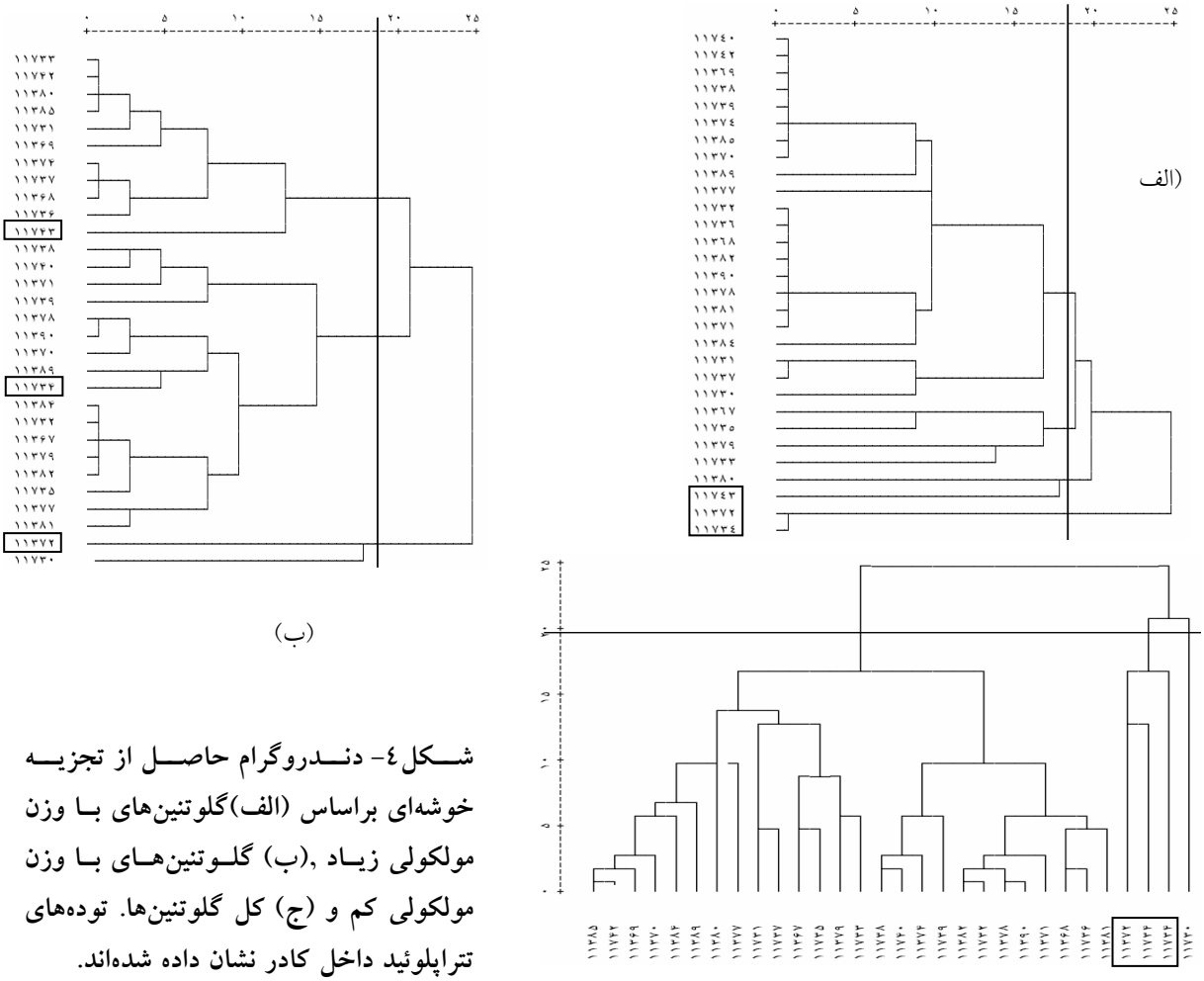
الکتروفورگرام گلوتنین‌های با وزن مولکولی کم

در کل ۱۲ نوار با زیر واحد گلوتنین با وزن مولکولی کم با قابلیت حرکت نسبی مختلف شناسایی شدند که همه آن‌ها دارای تنوع بودند. نوارهای گلوتنین 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 ۱۰٤ و ۱۰۷ با فراوانی ۳/۳۳ درصد دارای کمترین فراوانی بودند.

میزان تنوع ژنتیکی در مکان‌های ژنی رمزکننده گلوتنین‌های 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 به‌صورت زیر بود:

Glu-B1>Glu-D1>Glu-A1



شکل٤- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای براساس (الف)گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد ,(ب) گلوتنین‌های با وزن مولکولی کم و (ج) کل گلوتنین‌ها. توده‌های تتراپلوئید داخل کادر نشان داده شده‌اند.

مشاهده می‌شود که میزان تنوع در مکان ژنی رمز کننده گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد (*Glu-1*) اندکی بالاتر از مکان ژنی رمز کننده گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد (*Glu-3*) می‌باشد، درحالی‌که دربندی و همکاران (۱۳۸۱) با مطالعه گلوتنین‌های 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 گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم

نتایج تجزیه خوشه‌ای بر اساس گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد و کم به‌طور جداگانه و توام در شکل ٤ آمده است. تجزیه خوشه‌ای نمونه‌ها از لحاظ گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد (شکل٤- 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 گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد را گزارش کرده‌اند (٤، ٥). تجزیه خوشه‌ای بر اساس گلوتنین‌های با وزن مولکولی کم (شکل٤- 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

گلوتنین با وزن مولکولی کم و زیاد (شکل٤- ج) به‌طور مناسب گندم‌های تتراپلوئید را مجزا کرده است.

نتیجه‌گیری کلی

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

منابع

۱- ایزدی دربندی، ع.، ب. یزدی صمدی، س. عبد میشانی، ع. شاه نجات بوشهری و ف. شهریاری. ۱۳۸۱. بررسی پلی مورفیسم الکتروفورزی ارقام گندم نان از نظر زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۳، شماره ۱، ٤٧-۳۷.

۲- توحیدفر، ق.، س. عبدمیشانی، و ب. یزدی صمدی. ۱۳۷۷. تعیین رابطه پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه (گلوتنین) با ارزش نانوایی لاین‌های پیشرفته گندم از طریق تکنیک الکتروفورز. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۲۹، شماره ۳، ٦١٥-٦٠٧.

۳- رضایی، ع. ۱۳۷۵. رابطه بین کیفیت آرد و زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا در گندم. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۲۷، شماره۱، صفحات ۲۱-۱۱.

٤- سفالیان، ا. ۱۳۷۸. بررسی پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم‌های بومی آذربایجان‌غربی و ارتباط آن‌ها با طیف پروتئینی خویشاوندان وحشی گندم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، ۷۰ صفحه.

۵- شهبازی، ح. ۱۳۷۸. بررسی خاصیت نانوایی گندم‌های بومی آذربایجان از طریق الکتروفورز پروتئین‌ها و ارتباط آن با صفات زراعی و کمی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، ٦٧ صفحه.

٦- عبد میشانی، س. و ع. شاه نجات بوشهری. ۱۳۷۲. اصلاح نباتات تکمیلی (جلد دوم) بیوتکنولوژی گیاهی. چاپ اول. انتشارات دانشگاه تهران. ١٦٩-١٤٣.

۷-گرامی، ب. ۱۳۷۲. استفاده از الکتروفورز در اصلاح گندم. اولین گنگره زراعت و اصلاح نباتات. انتشارات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، ٢٦٩-٢٤٣.

۸- نجفیان، گ.، س. عبد میشانی و ب. یزدی صمدی. ۱۳۷٦. تأثیر تنوع آللی زیر واحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی زیاد در ارزش نانوایی 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 vinter 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 storaeg proteins in Japanese common wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica 132:167-174.