

تنوع ژنتیکی زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا (HMW_{GS}) *Aegilops triuncialis* L. مناطق شمالی ایران

Genetic variation of high molecular weight glutenin subunits (HMW_{GS}) in *Aegilops triuncialis* L. accessions collected from northern regions of Iran

هادی شیرزاد^{۱*}، جعفر احمدی^۱، محمد جعفرآقایی^۲، بهزاد سرخی^۳

- ۱- به ترتیب کارشناسی ارشد، استاد، گروه ژنتیک و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
۲- دانشیار، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، البرز، ایران
۳- استادیار، بخش ژنتیک و بانک ژن ملی گیاهی ایران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، البرز، ایران

Shirzad H^{*1}, Ahmadi J¹, JafarAghaei M², Sorkhi B³

- 1- MSc Plant Breeding, Professor, Department of Genetics and Plant Breeding, College of Agriculture, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
2- Associate Professor, Horticulture Research Institute, Alborz, Iran
3- Assistant Professor, Department of Genetics Research and National Genetic Gene Bank of Iran, Seed and Plant Improvement Research Institute, Alborz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: h.shirzad@edu.ikiu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۸)

چکیده

تنوع ژنتیکی پایه و اساس اصلاح گیاهان محسوب می شود که گزینش و بهبود گیاهان با صفات و خصوصیات مطلوب را ممکن می سازد. جنس آزیلوپس (*Aegilops* spp) یکی از خویشاوندان وحشی گندم نان است و پراکنش وسیعی در خاورمیانه و غرب آسیا دارد که ایران بخش وسیعی از این منطقه را در بر می گیرد. در این تحقیق ۷۵ توده از جمعیت های گونه آزیلوپس ترنسالیس (*Aegilops triuncialis*) که در بانک ژن گیاهی ملی ایران نگهداری می شوند، از نظر تنوع زیر واحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) با استفاده از روش SDS-PAGE مورد ارزیابی قرار گرفتند که در مجموع ۱۰ باند پروتئینی در قالب ۲۰ الگوی مختلف در میان نمونه ها مشاهده شد. بیشترین فراوانی باندهای مربوط به b و i با فراوانی ۰/۹۳ و کمترین فراوانی مربوط به b و k با فراوانی ۰/۲۶ بود که تنها در استان های قزوین و گلستان مشاهده شد. بالاترین مقدار تنوع ژنتیکی تصحیح شده مربوط به استان مرکزی و برابر ۰/۴ و کمترین تنوع ژنتیکی تصحیح شده مربوط به استان کردستان برابر ۰/۱۳ بود. ماتریس فاصله ژنتیکی استان ها بر اساس شاخص نی نشان داد که بیشترین فاصله ژنتیکی را نمونه های دو استان گلستان و خراسان شمالی از استان آذربایجان غربی داشتند و کمترین فاصله ژنتیکی بین استان خراسان رضوی و سمنان و همچنین بین استان خراسان شمالی و مازندران مشاهده شد. تجزیه خوشه ای زیر واحدهای HMW-GS با استفاده از روش UPGMA، استان های مورد بررسی را به سه گروه تقسیم کرد و مشخص شد که رابطه منطقی مشخصی بین تنوع ژنتیکی و تنوع جغرافیایی وجود دارد.

واژه های کلیدی

آزیلوپس
تنوع آلی
زیر واحدهای گلوٹنین
HMW-GS

مقدمه

تنوع ژنتیکی اساس موفقیت در بهبود خواص غذایی غلات است و می‌توان با روش‌های گوناگونی همچون بررسی مورفولوژیکی صفات و نشانگرهای مولکولی به سادگی آن‌ها را شناسایی کرد (Fufa et al. 2005; Metakovsky 1991). اهمیت تنوع ژنتیکی در اصلاح گیاهان در مطالعات بسیاری گزارش شده و ارزیابی نمونه‌های موجود در کلکسیون‌ها اطلاعات مفیدی را بر روی صفات گیاهی آشکار کرده است که می‌توانند در مطالعات الگوهای تنوع ژنتیکی به کار آیند (Powell et al. 1996). آزیلوپس‌ها به عنوان مهم‌ترین خویشاوندان وحشی گندم شامل تعدادی از گیاهان یک‌ساله وحشی هستند که بیشتر در اقلیم مدیترانه‌ای گسترش دارند و به دلیل رابطه خویشاوندی نزدیک با گندم زراعی به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. استفاده از گونه‌های این جنس از لحاظ وجود یک مجموعه ژرم پلاسما با تنوع بسیار وسیع، و همچنین به دلیل داشتن ویژگی‌هایی در ارتباط با سازگاری بلند مدت اهمیت بسزایی در برنامه‌های اصلاحی گندم دارند (Bushuk and Zillman 1978). گونه *Ae. triuncialis* تتراپلوئید ($2n=4X=28$) با فرمول ژنی UUCC می‌باشد که از تلاقی بین گونه‌های *Ae. umbellulata* (با فرمول ژنومی UU) و *Ae. caudata* (با فرمول ژنومی CC) به وجود آمده است (Zhang et al. 1998). این گونه دارای ژن‌های مقاومت به سیست غلات می‌باشد (Romero et al. 1998). همچنین ژن مقاومت به زنگ برگ از این گونه به ژنوم D گندم انتقال یافته است (Aghaei-sarbarzeh et al. 2002). گونه *Ae. triuncialis* گیاهی یک‌ساله و پاییزه با چندین ساقه جانبی، سنبله‌های تقریباً استوانه‌ای شکل که به صورت تکی از هم جدا شده است (Van slageren 1994). تعیین تنوع ژنتیکی، اولین و اساسی‌ترین گام در جهت مطالعات به‌نژادی می‌باشد. چرا که به واسطه آن می‌توان ارقام را در گروه‌های مختلف طبقه‌بندی و در مواقع لازم از آن‌ها استفاده کرد (Mohammadi et al. 2006). برخی از تفاوت‌های موجود در DNA بین دو موجود، ممکن است به صورت پروتئین‌های با اندازه‌های مختلف ظاهر شود که از طریق شیمیایی قابل ثبت و مطالعه می‌شود (Abd-mishani et al. 1988). پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در خویشاوندان وحشی گندم دارای تنوع ژنتیکی

وسعی می‌باشند. اجزای این پروتئین‌های ذخیره‌ای ارتباط مستقیمی با خواص تکنولوژیکی و تغذیه‌ای گندم زراعی داشته و می‌توانند به عنوان نشانگرهای ژنتیکی کارآمد در این رابطه به کار روند. ویژگی مهم آن‌ها سطح تنوع قابل تشخیص ژنتیکی بالا و عدم تغییرات چشمگیر آن‌ها در اثر شرایط محیطی است. الگوهای الکتروفورزی آن‌ها معیار خوبی برای شناسایی جوامع مختلف گیاهی و ارقام می‌باشند؛ بنابراین می‌توان از پروتئین‌های ذخیره‌ای به عنوان معیاری دقیق برای تخمین تنوع ژنتیکی و یا سایر مطالعات استفاده نمود (Campbell 1987). عوامل محیطی هر چند بر مقدار پروتئین‌های ذخیره‌ای تأثیر می‌گذارند، ولی بر حضور آن‌ها در بذور رسیده بی‌تأثیر و یا کم اثر می‌باشند. به علت هم بارز بودن بروز ژن‌های کنترل‌کننده این پروتئین‌ها، الگوهای الکتروفورزی آن‌ها معیار خوبی برای شناسایی جوامع گیاهی و ارقام می‌باشند. از جمله مهم‌ترین کاربردهای پروتئین‌های ذخیره‌ای در اصلاح نباتات، می‌توان به استفاده از رابطه موجود بین بعضی از آلل‌های کنترل‌کننده آن‌ها با کیفیت مطلوب فرآورده‌های مختلف و یا ویژگی‌های خاصی از گیاه اشاره نمود. مثلاً بعضی از گلوٲنین‌های گندم ارزش نانوائی بهتری به نان می‌دهند و برخی نیز موجب مقاومت به بیماری و آفت می‌شوند. بنابراین اهمیت این پروتئین‌ها در برنامه‌های اصلاحی قابل توجه است (Blackman 1987; Silvela 1993). گلوٲن گندم ترکیب پیچیده‌ای از پروتئین‌ها (گلوٲنین و گلیادین) همراه با ۵۰ مؤلفه تفکیک شده به وسیله تکنیک‌های الکتروفورز است (Shewry and Halford 2002). هشتاد درصد گلوٲن را پروتئین، هشت درصد آن را چربی و بقیه آن را مواد معدنی و کربوهیدرات‌ها تشکیل می‌دهند. از بین این اجزاء پروتئین‌ها هستند که عامل ایجاد خاصیت منحصربه‌فرد چسبندگی و کشسانی گلوٲن به شمار می‌روند (Hoseney 1986; Wall 1979). زیر واحدهای گلوٲنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) و پائین (LMW-GS) نقش اصلی را در خصوصیات کشسانی آرد گندم نان دارند (Masci et al. 1998). تنوع واریته‌ها از نظر الگوی الکتروفورز برای زیر واحدهای گلوٲنین با وزن مولکولی بالا بسیار زیاد است (Lawrence et al. 1988). مطالعات ژنتیکی نشان داده است که از کل کروموزوم‌های گندم، گروه همیولوگ (1A, 1B, 1D) نقش

جدول ۱- استان‌های مورد بررسی و تعداد توده‌های مورد آزمایش از هر استان

استان محل جمع‌آوری	تعداد نمونه
البرز	۵
تهران	۳
آذربایجان شرقی	۳
آذربایجان غربی	۵
گیلان	۴
گلستان	۶
کردستان	۳
قزوین	۷
سمنان	۶
زنجان	۶
خراسان رضوی	۱۲
خراسان شمالی	۵
مازندران	۵
مرکزی	۵
جمع کل	۷۵

۷۵ این تحقیق در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهی بانک ژن گیاهی موسسه تحقیقات و تولید نهال و بذر ایران اجرا شد. جدول ۱ تعداد توده‌های مورد بررسی و محل جمع‌آوری آن‌ها را نشان می‌دهد. توده جمع‌آوری شده از نظر پروتئین‌های ذخیره‌ای گلوتهین با وزن مولکولی بالا (HMW-Gs) مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین در این تحقیق چهار رقم شاهد روشن، استار، پارسی و سیروان برای افزایش دقت در شناسایی باندهای گلوتهین دارای وزن مولکولی بالا مورد استفاده قرار گرفتند. برای تعیین این نوع گلوتهین‌ها در توده‌های مورد ارزیابی، پروتئین بذر با استفاده از SDS و مرکاپتواتانول استخراج و از الکتروفورز تک‌بعدی SDS-PAGE به روش لایملی با اعمال تغییرات اندکی در حجم مواد استفاده شد (Fullington et al. 1983). باندهای مشاهده شده در تمامی نمونه‌ها در مقایسه با باندهای شاهد به ترتیب نام‌گذاری شدند. الگوهای باندهای مشابه در نمونه‌ها تعیین و نمونه‌های با الگوی یکسان در یک گروه قرار گرفتند. در مرحله بعد ماتریس صفر (عدم مشاهده باند) و یک (مشاهده باند) ایجاد شد. پس از امتیازدهی به باندها، تنوع ژنتیکی توده‌ها، جریان ژنی بین توده‌ها، هتروزیگوسیتی، فاصله ژنتیکی و شباهت ژنتیکی میان توده‌ها و روابط بین توده‌ها بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای GenAlex و Pop Gen انجام شد. همچنین

مهمی را در ارزش نانوائی آن دارند و برای ارتقای کیفیت، تنها افزایش درصد پروتئین دانه کافی نیست بلکه کیفیت و نوع پروتئین نیز مهم است. با توجه به موارد فوق، نمی‌توان کیفیت هر رقم گندم را بر حسب یک خصوصیت بیان نمود، بلکه چندین ویژگی از قبیل خواص شیمیایی، خواص آسیاب کردن، ویژگی‌های پخت و خواص فیزیکی خمیر در کیفیت نانوائی مؤثر بوده و حائز اهمیت می‌باشند (Mansur 1990). سایر محققین با استفاده از آزمایش‌های مختلف، رابطه گلوتهین‌های با وزن مولکولی بالا را با کیفیت نانوائی اثبات کرده‌اند (Brunori et al. 1988; Lawrence et al. 1984). در برخی از این تحقیقات به اثرات متقابل بین ژنومی و یا زیر واحدهای گلوتهین و درصد پروتئین اشاره شده است. موفقیت الکتروفورز پروتئین‌ها در شناسایی و تشخیص ارقام به این خاطر است که پروتئین‌های تفکیک شده توسط آن اولین محصول فعالیت ژن‌ها هستند (Payne 1987). بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی کیفیت گندم، از پروتئین‌های ذخیره بذر به‌عنوان یک شاخص کلیدی و ارزشمند استفاده می‌شود. وجود تنوع آللی در هر مکان ژنی منجر به ایجاد روش نام‌گذاری برای تشخیص آلل‌های مختلف در مکان‌های ژنی گلیادین‌ها و گلوتهین‌ها شده است (Payne and Lawrence, 1993; Ruiz and Carrillo 1984; Metakovsky et al. 1983). مزیت الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید در حضور SDS در آن است که با استفاده از یک دانه گندم و بدون نیاز به تخریب ژرم پلاسما آن و تنها با نیمه حاوی آندوسپرم دانه می‌توان پروتئین‌های آن را بر اساس وزن مولکولی جدا نمود و همین برتری باعث گستردگی استفاده از این روش برای تفکیک پروتئین‌های ذخیره‌ای شده است. هدف از این تحقیق و تحقیقات مشابه (Shahnejat-bushehri et al. 2006, 2011; Naghavi 2013) دستیابی به میزان تنوع ژنتیکی و آللی موجود در توده‌های *Ae. triuncialis* از نظر زیر واحدهای پروتئینی بود.

مواد و روش‌ها

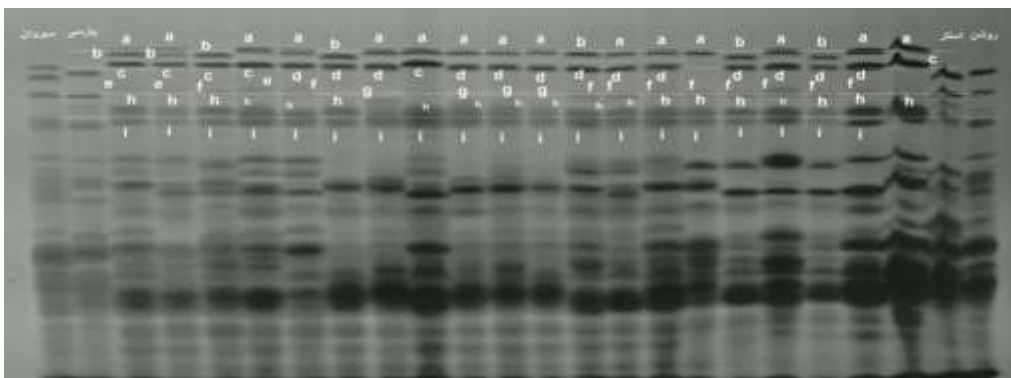
مواد گیاهی مورد بررسی در این پژوهش، شامل ۷۵ نمونه از توده‌های بومی گونه *Ae. triuncialis* بود که توسط بانک ژن ملی گیاهی ایران از ۱۳ استان نیمه شمالی ایران جمع‌آوری شده بودند.

مشاهده شد (شکل ۲ و ۳). بیشترین تنوع ژنتیکی کل مربوط به آلل‌های c و d برابر ۰/۵ و کمترین تنوع ژنتیکی کل برابر ۰/۰۵ و مربوط به آلل k بود. بیشترین شاخص شانون نیز مربوط به دو آلل c و d برابر ۰/۷ درصد و کمترین شاخص شانون برای آلل k برابر ۰/۱ درصد بود. بالاترین میزان تمایز جمعیت‌ها مربوط به آلل‌های a و b برابر ۰/۴ بود و بیشترین جریان ژنی مربوط به آلل i با مقدار ۴/۰۵ بود (جدول ۲). در مطالعه‌ای بر روی ۷۷ رقم گندم *Triticum aestivum* که با روش SDS-PAGE در پاکستان انجام شد، هشت آلل مشاهده شد و میانگین تمایز جمعیت‌ها، تنوع درون جمعیتی و تنوع کل به ترتیب برابر ۰/۷۳، ۰/۱ و ۰/۳۹ بود (Masood et al. 2004). در مطالعه‌ای دیگر بررسی بر روی ۱۱۱ رقم زراعی گندم نان به وسیله سدیم دودسیل سولفات انجام شد.

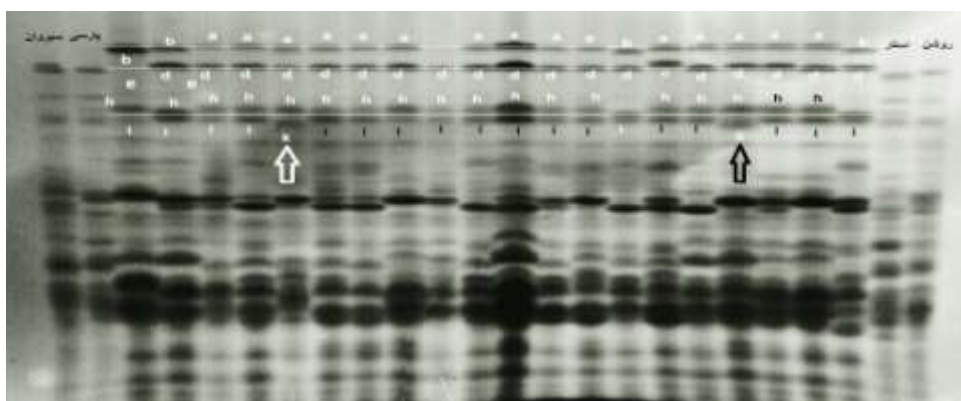
با استفاده از روش تجزیه کلاستر گروه‌بندی و روابط بین توده‌ها بررسی شدند.

نتایج و بحث

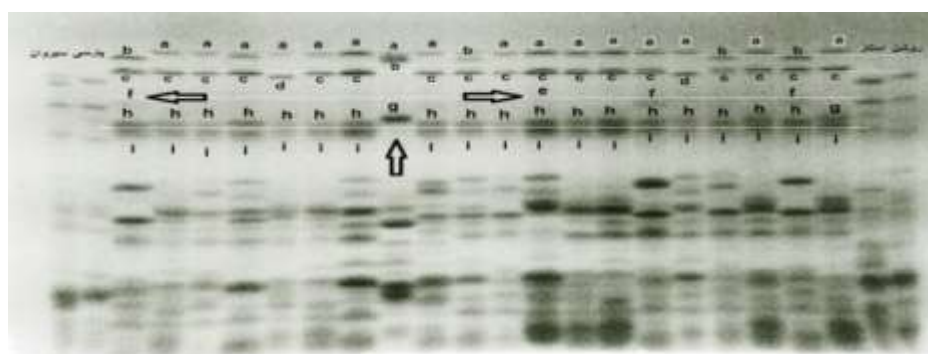
شکل ۱ الکتروفورگرام مربوط به تعدادی از توده‌های مورد مطالعه به همراه نام‌گذاری باندهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، نوارهای HMW-GS به راحتی و بدون هیچ مشکلی تشخیص داده شدند. به‌طور کلی برای توده‌های *Ae. triuncialis* مورد مطالعه ۱۰ آلل a, b, c, d, e, f, g, h, i و k شناسایی شد که بیشترین فراوانی را آلل‌های h و i با ۰/۹۳ به خود اختصاص دادند و کمترین فراوانی مربوط به آلل k با ۰/۰۲۶ بود که تنها در دو توده از استان‌های قزوین و گلستان



شکل ۱- الکتروفورگرام تعدادی از توده‌های مورد مطالعه برای باندهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا به همراه چهار رقم شاهد روشن، استار، پارسی و سیروان



شکل ۲- شناسایی باند k بر روی ژل SDS-PAGE



شکل ۳- شناسایی باندهای e, f و g بر روی ژل SDS-PAGE

جدول ۲- پارامترهای ژنتیکی درون جمعیتی بین آللهای شناسایی شده

پارامتر	a	b	c	d	e	f	g	h	i	K	میانگین
Band freq.	۰/۷۲	۰/۳۰	۰/۳۷	۰/۵۸	۰/۱۰	۰/۲۱	۰/۰۸	۰/۹۳	۰/۹۳	۰/۰۲	۰/۴۲
Na تعداد آلل واقعی	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
Ne تعداد آلل مؤثر	۱/۷	۱/۷	۱/۹	۱/۹	۱/۲	۱/۵	۱/۲	۱/۱	۱/۱	۱	۱/۴
I شاخص شانون	۰/۶	۰/۶	۰/۷	۰/۷	۰/۳	۰/۵	۰/۳	۰/۲	۰/۲	۰/۱	۰/۴
Ht تنوع کل	۰/۴	۰/۴	۰/۵	۰/۵	۰/۲	۰/۳	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۰۵	۰/۳
Hs تنوع درون جمعیتی	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۱۴	۰/۲۷	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۱	۰/۰۴	۰/۲۱
Gst تمایز جمعیتها	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۲۲
Nm جریان ژنی	۰/۸۲	۰/۷۵	۳/۹	۲/۷	۲/۰۸	۲/۰۹	۲/۰۴	۳/۵۴	۴/۰۵	۳/۲	۱/۷

می‌توان از این گونه، در جهت بالا بردن کیفیت ارزش نانوائی گندم نان استفاده کرد. در مواردی خاص بعضی ژنهای گلوٲنین با وزن مولکولی بالای موجود در *Ae. tauschii* تأثیر معنی‌داری در خواص نانوائی گندم‌های هگزاپلوئید مصنوعی داشتند (Tilly et al. 2000). بررسی ترکیبات HMW-GS نشان داده است که تنوع آللی گسترده‌تری در لوکوس Glu-D1 در *Ae. tauschii* وجود دارد به‌طوری که در گندم نان یافت نشده است (Dvorak et al. 1998). بیشترین مقدار تنوع ژنتیکی تصحیح شده مربوط به استان مرکزی برابر ۰/۴ بود و کمترین این مقدار، مربوط به استان کردستان برابر ۰/۱۳ بود.

در این آزمایش ۱۶ آلل مشاهده شد و میانگین تنوع کل، تنوع درون جمعیتی و تمایز جمعیت‌ها به ترتیب برابر ۰/۱۹، ۰/۰۴ و ۰/۲۳ بود (Yong et al. 2007). این تحقیق نشان داد میانگین فراوانی باندها در ۱۳ استان مورد مطالعه تقریباً با یکدیگر مساوی و برابر ۰/۴ بود، اما برخی از باندها مانند باند k فقط در دو استان و یا باند g که فقط در پنج استان مشاهده شد. باندهای a, d, h و i در تمام استان‌ها شناسایی شد و فراوانی بین ۰/۲ تا ۱ داشتند. استان‌های قزوین، گلستان و خراسان رضوی، تنها استان‌هایی بودند که از میان ۱۰ آلل شناسایی شده در این آزمایش، ۹ باند و آلل در آن‌ها مشاهده شد (جدول ۳). با توجه به اینکه آللهای a, d, h و i جزو زیر واحدهای سنگین پروٲینی محسوب می‌شوند

PAGE احتمالاً به دلیل حذف یا عدم تظاهر ژنهای کدکننده آنها می باشد. برخی نیز دلیل عدم تظاهر این زیرواحدها را جهش خاموش کننده (Switch off) ذکر نموده اند (Payne et al. 1981). همچنین در این بررسی تعداد ۲۰ الگوی باندى شناسایی شد که بیشترین فراوانی الگوی باندى مربوط به الگوهای شماره ۱۴ و ۶ به ترتیب با فراوانی ۲۲/۶ و ۱۷/۳ درصد بود. همچنین الگوهای شماره ۱۴ و ۶ هرکدام، در نه استان مشاهده شدند که خود، توجیهی برای فراوانی بالای این دو الگو است. آلل h و i بیشترین فراوانی را در میان الگوها داشتند، به طوری که از ۲۰ الگوی شناسایی شده ۱۶ الگو آلل h و ۱۷ الگو آلل i را در خود داشتند. در مقابل، آلل k کمترین فراوانی را در میان الگوها داشت به طوری که فقط الگوی شماره ۱۷ دارای آلل k بود. بر اساس این تحقیق الگوهای شماره ۴، ۷، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۰ در *Ae. triuncialis* منحصر به فرد بودند (جدول ۵).

شاخص شانون برای استانهای قزوین، گلستان و مرکزی به ترتیب برابر ۰/۴۲، ۰/۴ و ۰/۴۵ درصد و از بقیه بالاتر بود و کمترین میزان شاخص شانون نیز مربوط به استان کردستان بود. استان قزوین بالاترین میزان پلی مورفیمی باندها را با میزان ۹۰ درصد به خود اختصاص داد و کمترین درصد پلی مورفیک به استان کردستان با مقدار ۲۰ درصد مربوط بود (جدول ۴). در تحقیقی که جهت بررسی تنوع آللی زیرواحدهای گلوٲتین بذر با استفاده از الکتروفورز صورت گرفت، تنوع قابل ملاحظه ای در الگوی باندهای پروتئینهای ذخیره ای *Ae. triuncialis* مشاهده شد (Masood et al. 2000). در مطالعه ای دیگر تنوع پروتئینهای ذخیره ای بذر برای ۲۳ جمعیت از گیاه *Ae. triuncialis* به روش SDS-PAGE مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این آزمایش میانگین درصد پلی مورفسم برای تمام توده ها را برابر ۷۵/۵ درصد نشان داد که نشان دهنده تنوع بالای توده ها بود (Ghavi-Bazoo et al. 2011). فقدان برخی زیرواحدها در SDS-

جدول ۳- فراوانی باندهای شناسایی شده در استانهای مورد مطالعه

استان	باند										میانگین
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	
آذربایجان غربی	۰/۲	۰/۸	۰/۲	۰/۶	۰/۴	۰/۴	۰	۱	۱	۰	۰/۴۶۴
آذربایجان شرقی	۰/۶۶۷	۰/۳۳۳	۰/۵	۰/۵	۰	۰/۱۶۷	۰	۱	۰/۸۳۳	۰	۰/۴
قزوین	۰/۴۲۹	۰/۵۷۱	۰/۱۴۳	۰/۸۵۷	۰/۱۴۳	۰/۱۴۳	۰	۰/۸۵۷	۰/۸۵۷	۰/۱۴۳	۰/۴۱۴
گیلان	۱	۰	۰/۵	۰/۵	۰	۰/۵	۰	۱	۱	۰	۰/۴۵۰
گلستان	۱	۰	۰/۵	۰/۳۳۳	۰/۱۶۷	۰/۱۶۷	۰/۱۶۷	۰/۸۳۳	۰/۸۳۳	۰/۱۶۷	۰/۴۱۷
خراسان رضوی	۰/۸۳۳	۰/۱۶۷	۰/۳۳۳	۰/۶۶۷	۰/۰۸۳	۰/۲۵۰	۰/۰۸۳	۱	۰/۹۱۷	۰	۰/۴۳۳
خراسان شمالی	۱	۰	۰/۴	۰/۶	۰	۰	۰/۴	۱	۱	۰	۰/۴۴۰
کردستان	۰/۳۳۳	۰/۶۶۷	۰	۱	۰	۰	۰	۱	۱	۰	۰/۴
مرکزی	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۲	۰	۰/۶	۰/۲	۰/۸	۰/۸	۰	۰/۴۴۰
مازندران	۱	۰	۰/۴	۰/۶	۰	۰	۰/۲	۰/۸	۱	۰	۰/۴
سمنان	۱	۰	۰/۳۳۳	۰/۶۶۷	۰/۱۶۷	۰/۱۶۷	۰	۱	۱	۰	۰/۴۳۳
تهران	۰/۴	۰/۶	۰/۴	۰/۶	۰	۰/۲	۰	۰/۸	۱	۰	۰/۴
زنجان	۰/۶۶۷	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۳۳۳	۰/۱۶۷	۰	۱	۱	۰	۰/۴۶۷

جدول ۴- پارامترهای ژنتیکی درون جمعیتی توده‌های *Ae. triuncialis* بین استان‌های مورد مطالعه

درصد پلی مورفیسم	شاخص شانون	تنوع تصحیح شده	تعداد آلل مؤثر	تعداد آلل واقعی	پارامتر	استان
I	Uh	Ne	Na			
۶۰٪	۰/۳۷	۰/۳۲	۱/۴۶	۱/۳	Mean	تهران
۶۰٪	۰/۳۵	۰/۳۰	۱/۴۱	۱/۴	Mean	آذربایجان غربی
۶۰٪	۰/۳۵	۰/۲۹	۱/۴۳	۱/۳	Mean	آذربایجان شرقی
۹۰٪	۰/۴۲	۰/۳۱	۱/۴۱	۱/۸	Mean	قزوین
۸۰٪	۰/۴۰	۰/۳۱	۱/۴۱	۱/۷	Mean	گلستان
۳۰٪	۰/۲۱	۰/۲۰	۱/۳۰	۰/۹	Mean	گیلان
۲۰٪	۰/۱۳	۰/۱۳	۱/۱۶	۰/۷	Mean	کردستان
۳۰٪	۰/۲۰	۰/۱۸	۱/۲۷	۰/۹	Mean	خراسان شمالی
۸۰٪	۰/۳۶	۰/۲۵	۱/۳۵	۱/۷	Mean	خراسان رضوی
۴۰٪	۰/۲۲	۰/۱۷	۱/۰۵	۱/۱	Mean	سمنان
۶۰٪	۰/۳۸	۰/۳۲	۱/۵۰	۱/۴	Mean	زنجان
۴۰٪	۰/۲۳	۰/۲۰	۱/۲۷	۱	Mean	مازندران
۸۰٪	۰/۴۵	۰/۴۰	۱/۵۵	۱/۶	Mean	مرکزی

جدول ۵- فراوانی الگوها و شناسایی باندهای آن‌ها در بررسی ۷۵ توده *Ae. triuncialis*

الگوها																			
باند	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹
a	+	+		+	+	+	+		+		+	+		+	+		+		
b			+					+		+	+		+		+	+		+	+
c		+				+			+	+	+	+							
d		+	+		+		+	+						+		+	+	+	+
e									+		+							+	+
f		+	+							+									
g					+		+					+			+				
h	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+		+	+	+	+
i		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+		+	+
k																	+		
فراوانی (درصد)	۲/۶	۹/۳	۵/۳	۱/۳	۴	۱۷/۳	۱/۳	۵/۳	۲/۶	۵/۳	۲/۶	۱/۳	۵/۳	۲۲/۶	۱/۳	۲/۶	۲/۶	۱/۳	۴

مورفیسم وجود دارد به‌طوری‌که هرچقدر این مقادیر بالاتر باشند، درصد چندشکلی آن استان بالاتر خواهد بود و این پارامتر نشان از تنوع بالای آن جمعیت در استان می‌دهد (جدول ۶). فاصله ژنتیکی بر اساس شاخص نی نشان داد که به‌طورکلی بیشترین فاصله ژنتیکی را دو استان گلستان و خراسان شمالی از استان

بیشترین تنوع الگوها در توده‌های استان خراسان رضوی با ۸ نوع الگو و بعد از آن در توده‌های استان‌های قزوین و گلستان هرکدام با ۶ نوع الگو وجود داشت. می‌توان نتیجه گرفت رابطه‌ی مستقیمی میان شاخص شانون، تنوع ژنتیکی و تعداد الگوهای مختلف در هر استان، با درصد پلی

توده‌ها از نقطه نظر ضریب همسانی ژنتیکی در شکل ۴ دیده می‌شود. به این ترتیب، ۱۳ استان مورد تحقیق، به سه گروه تفکیک شدند. به‌طورکلی گروه‌های یک، دو و سه به‌ترتیب ۶/۶، ۵۰/۶ و ۴۲/۶ درصد از توده‌ها را شامل شدند.

استان	الگو																				تعداد الگو
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	
آذربایجان غربی		*	*										*						*	*	۵
آذربایجان شرقی	*	*											*								۳
قزوین			*										*	*			*	*	*		۶
گیلان		*				*				*				*							۴
گلستان				*		*			*			*		*			*				۶
خراسان رضوی	*	*	*		*	*					*			*				*			۸
خراسان شمالی					*	*								*							۳
کردستان								*						*							۲
مرکزی			*			*				*						*					۴
مازندران						*	*							*							۳
سمنان		*				*			*					*							۴
تهران		*				*		*					*				*				۵
زنجان						*				*	*			*				*			۵
تعداد مشاهده هر الگو در																					
استان‌ها	۲	۴	۴	۱	۲	۹	۱	۲	۲	۳	۲	۱	۴	۹	۱	۲	۲	۱	۳	۱	

آذربایجان غربی	آذربایجان شرقی	قزوین	گیلان	گلستان	خراسان رضوی	خراسان شمالی	کردستان	مرکزی	مازندران	سمنان	تهران	زنجان
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۰/۱۰۸	۰/۰۵۹	۰/۱۴۹	۰/۰۳۳	۰/۱۵۹	۰/۰۶۳	۰/۰۳۲	۰/۰۳۷	۰/۰۲۸	۰/۰۲۳	۰/۰۲۲	۰/۰۲۱	۰/۰۲۰
۰/۲۱۲	۰/۰۴۴	۰/۱۴۹	۰/۰۳۳	۰/۱۵۹	۰/۰۶۳	۰/۰۳۲	۰/۰۳۷	۰/۰۲۸	۰/۰۲۳	۰/۰۲۲	۰/۰۲۱	۰/۰۲۰
۰/۲۵۰	۰/۰۴۹	۰/۱۵۹	۰/۰۳۳	۰/۱۵۹	۰/۰۶۳	۰/۰۳۲	۰/۰۳۷	۰/۰۲۸	۰/۰۲۳	۰/۰۲۲	۰/۰۲۱	۰/۰۲۰
۰/۱۳۴	۰/۰۱۸	۰/۰۶۳	۰/۰۲۳	۰/۰۳۳	۰/۰۳۷	۰/۰۲۸	۰/۰۲۳	۰/۰۲۲	۰/۰۲۱	۰/۰۲۰	۰/۰۱۹	۰/۰۱۸
۰/۲۵۰	۰/۰۵۶	۰/۱۳۸	۰/۰۵۱	۰/۰۳۲	۰/۰۲۸	۰/۰۲۳	۰/۰۲۲	۰/۰۲۱	۰/۰۲۰	۰/۰۱۹	۰/۰۱۸	۰/۰۱۷
۰/۰۶۴	۰/۰۹۳	۰/۰۱۳	۰/۰۲۰	۰/۰۳۲	۰/۰۲۳	۰/۰۲۲	۰/۰۲۱	۰/۰۲۰	۰/۰۱۹	۰/۰۱۸	۰/۰۱۷	۰/۰۱۶
۰/۱۲۲	۰/۰۶۲	۰/۱۴۶	۰/۰۹۷	۰/۱۱۷	۰/۱۰۶	۰/۱۶۳	۰/۲۰۶	۰	۰/۱۵۳	۰/۱۵۴	۰/۱۰۴	۰/۱۰۳
۰/۲۴۰	۰/۰۴۷	۰/۱۲۰	۰/۰۴۲	۰/۰۲۲	۰/۰۲۳	۰/۰۰۹	۰/۱۵۸	۰/۱۴۱	۰/۱۵۴	۰/۱۰۴	۰/۱۰۳	۰/۱۰۲
۰/۱۹۰	۰/۰۴۰	۰/۱۰۱	۰/۰۲۳	۰/۰۲۹	۰/۰۰۹	۰/۰۲۶	۰/۱۴۱	۰/۱۵۴	۰/۱۰۴	۰/۱۰۳	۰/۱۰۲	۰/۱۰۱
۰/۰۴۹	۰/۰۳۱	۰/۰۲۷	۰/۱۱۳	۰/۱۳۱	۰/۰۶۰	۰/۱۲۵	۰/۱۴۵	۰/۰۶۸	۰/۱۰۴	۰/۱۰۳	۰/۱۰۲	۰/۱۰۱
۰/۰۶۴	۰/۰۲۲	۰/۰۵۸	۰/۰۷۳	۰/۰۷۴	۰/۰۳۷	۰/۰۸۶	۰/۰۹۳	۰/۰۷۷	۰/۰۷۷	۰/۰۵۴	۰/۰۳۴	۰/۰۳۳

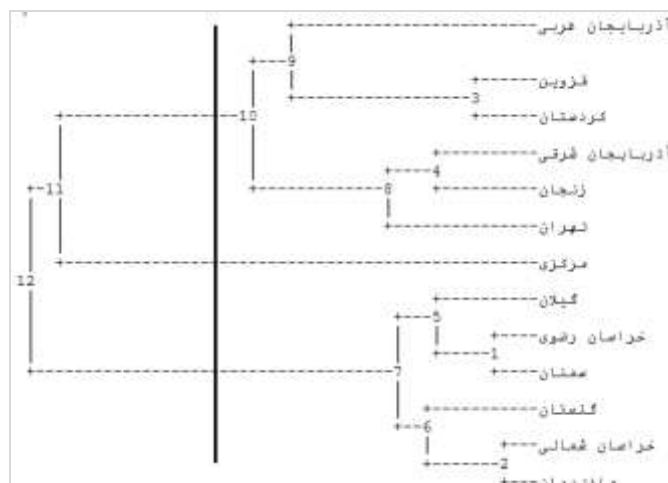
ژنتیکی یک گونه و ارتفاع برقرار باشد، استراتژی بانک ژن می‌تواند بر جمع‌آوری نمونه از مناطق مختلف الارتفاع استوار گردد. اگرچه گونه *Ae. triuncialis* ژنوم مشترکی با گندم هگزاپلوئید ندارد، اما می‌توان با انجام آزمایش‌های تخمین کیفیت پروتئین آرد همچون آزمون رسوب SDS، اندازه‌گیری حجم رسوب زلنی و میزان گلوتهین آرد و همچنین شناسایی دقیق ژن‌های کدکننده‌ی این باندها، کمکی در جهت پیشبرد اهداف اصلاحی گندم نان انجام داد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از بخش ژنتیک و بانک ژن ملی گیاهی ایران و موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به خاطر در اختیار گذاشتن بذر و تجهیزات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- Abd-mishani S and Shahnejat-Bushehri AA (1998) Supplemental plant breeding, Vol. II: Plant Biotechnology, Tehran University Press, Tehran, Iran (In Farsi).
- Aghaee-Sarbarzeh M, Ferrahi S, Singh H, Singh B, Friebe BS, Gill H and Dhaliwal S (2002) PhI-induced transfer of leaf and stripe rust-resistance genes from *Aegilops triuncialis* and *Ae. geniculata* to bread wheat. *Euphytica* 127: 377-382.
- Blackman JA and Payne P (1987) Grain quality". In: F.G.H. Lupton (ed), *Wheat breeding*. Chapman and Hall, London 455-458.
- Brunori A, Galterio G, Zannettino C, Pogna NE (1984) Bread-Making Quality Indices in *Triticum aestivum* Progenies. Implications in Breeding for Better Bread Wheat. *Plant breeding* 102: 222-231.
- Bushuck, W and Zillman RR (1987) Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. *Canadian Journal of Plant Science* 58: 505-515.
- Campbell WP, Wrigley CW, Cressey PJ and Slack CR (1987) Statistical correlations between quality attributes and grain-protein composition for 71 hexaploid wheats used as breeding parents. *Cereal Chemistry Journal* 64: 293-222.



شکل ۴- دندروگرام تعیین فاصله بین استان‌ها بر اساس تنوع آلی زیر واحدهای گلوتهین با وزن مولکولی بالا

یادآور می‌شود که مطالعه رابطه تنوع ژنتیکی و تنوع جغرافیایی از آن نظر حائز اهمیت است که در صورت وجود چنین رابطه‌ای، استفاده از تنوع می‌تواند به سودمندی برنامه‌های اصلاحی کمک کند و همچنین استراتژی جمع‌آوری و نمونه‌برداری بانک ژن را مشخص نماید. به‌عنوان مثال اگر همبستگی معنی‌داری بین تنوع

- Dvorak J, Luo MC, Yang ZI and Zhang HB (1998) The structure of *Aegilops tauschii* genepool and the evaluation of hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 657-670.
- Fufa H, Baenziger PS, Beecher I, Dweikat V, Graybosch RA, Eskridge KM (2005) Comparison of phenotypic and molecular marker-based classifications of hard red winter wheat cultivars. *Euphytica* 145: 133-146.
- Fullington JG, Cole EW and Kasarda DD (1983) Quantitative SDS-PAGE of total proteins from different wheat varieties, Effects of protein content. *Cereal Chemistry Journal* 60: 65-70.
- Ghavi-Bazoo F, Asghari-Zakaria R, Jahabshak-gadeh-kahriz S (2011) Study of diversity of low molecular weight LMW-GS glutenin subunits in *Aegilops triuncialis* wild wheat by SDS-PAGE. The First National Conference on Economic Jihad in Agriculture and Natural Resources.
- Hoseney, RC (1986) Principles of cereal and technology. Minnesota, USA. 327.
- Lawrence GJ, MacRitchie F, Wrigley CW (1988) Dough and baking quality of wheat lines deficient in glutenin subunits controlled by the Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1. *Journal of Cereal Science* 7: 109-112.

- Mansur LM, Qualset CD, Kasadra DD, Morris R (1990) Effect of Cheyenne chromosomes on milling and baking quality in chinese spring wheat in relation to glutenin and gliadin storage proteins. *Crop Science* 30: 593-602.
- Masci S, D'Ovidio R, Lafiandra D and Kasarda DD (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 Physiology* 118: 1147-1158.
- Masood SM, Asghar M and Anvar R (2004) Genetic diversity in wheat landraces from Pakistan based on polymorphism for HMW subunits. *Pakistan Journal of Botany* 36: 835-834.
- Masood SM, Okuno K, and Anwar R (2000) Inter and intra-specific variation in SDS-PAGE electrophoregrams of total seed protein in wheat, barley, and their wild species. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12: 2223-2225.
- Metakovsky EV, Novoselskaya YA, Kopus MM, Sobko TA and Sozino AA (1984) Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theoretical and Applied Genetics* 67: 559-568.
- Metakovsky EV (1991) Gliadin allele identification in common wheat. *Catalogue if gliadin alleles in common wheat. Genetics and Breeding* 45: 325-344.
- Mohammadi A, Majidi A, Bihanta MR, Heidari-sharifabad H (2006) Assessment of drought stress on the morphological characteristics of wheat crop. *Journal of Research in Agriculture and Horticulture* 73: 184-192.
- Naghavi MR (2013) Characterization of low-molecular-weight-glutenin subunit genes from the Dgenome of *Triticum aestivum*. *Aegilops crassa*, *Ae.cylindrical* and *Ae.Tauschii*. *Biochemical Systematics and Ecology* 50: 23-29.
- Payne PI, Corfield KG, Holt LM and Blackman JA (1981) Correlations between inheritance of certain high molecular weight subunits of glutenin and bread making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *Journal of The Science of Food and Agriculture* 32: 51-60.
- Payne PI (1987) Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Annual Review of Plant Physiology* 38: 141-153.
- Payne PI and Lawrence GJ (1983) Catalogue of alleles for the complex gene loci Glu A1, Glub1, and Glu-D1 which code for high-molecular- weight subunit of glutenin in hexaploid subunit of glutenin in some Japanese hexaploid wheats. *Cereal Science* 1: 3-8.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2: 225-238.
- Romero MD, Montes MJ, Sin E, Lopez-Braña I, Duce A, Martín-Sanchez JA, Andrés MF, Delibes A (1998) A cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) resistance gene transferred from *Aegilops triuncialis* to hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 1135-1140.
- Ruiz M and Carrillo JM (1993) Linkage relationship between prolamin genes on chromosomes 1A and 1B in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 353-360.
- Shahnejat Bushehri AA, Gomarian M and Yazdi-Samadi B (2006) The high molecular weight glutenin subunit composition in old and modern bread wheats cultivated in Iran. *Australian Journal of Agricultural Research* 57: 1109-1114.
- Shahnejat Bushehri AA, Salavati A, Yazdi-Samadi B, Hassani ME and Shahnejat Bushehri S (2011) Analysis of monomeric storage proteins "Gliadins" in Iranian bread wheats. *Cereal Research Communications* 39:100-108.
- Shewry PR, Halford NG 2002 Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany* 53: 947-958.
- Silvela L, Ayuso MC (1993) Genetic and environmental contributions to bread wheat flour quality using the SDS sedimentation test as an index. *Theoretical and Applied Genetics* 86: 889-894.
- Tilly M, Bean SR, Seib PA, Sears RG and Lookhart GL (2000) PCR amplification and DNA sequencing of high molecular weight glutenin subunits 43 and 44 from *Triticum tauschii* accessions TA2450 Zn wheat gluten. Edited by Shewry PR and Tatham AS. *The Royal Society of Chemistry, UK* 105-108.
- Van Slageren MW (1994) Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. and Spach.) Eig.(poaceae). Wageningen Agricultural University, International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Veenman Drukkers, Wagening 512.
- Wall JS (1979) The role of wheat proteins in determining baking quality. in: Lidman DL and RG. Wynjones, (eds.) *Recent advances in the biochemistry of cereals*. Academic Press, London 275-311.
- Yong L, Zhi-Yong X, Yong-Gang H, Shewry R, Guang-Yuan H (2007) Genetic diversity of HMW glutenin subunit in Chinese common wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces from Hubei province. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 865-874.
- Zhang H, Jiang J, Gale MD and Devose KM (1998) Relationships between the chromosomes of *Ae.umbellulata* and wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 69-75.