

تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های گونه *Aegilops biuncialis* از لحاظ پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر

Genetic diversity in ecotypes of *Aegilops biuncialis* for seed storage proteins

فاطمه احمدپور^{۱*}، رسول اصغری زکریا^۱، بهنام فیروزی^۱، حسین شهبازی^۲، امید سفالیان^۱

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، دانشجوی دکتری، دانشیار، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

۲- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

Ahmadpoor F^{1*}, Asghari-Zakaria R¹, Firoozi B¹, Shahbazi H², Sofalian O¹

1. PhD Student, Associate Professor, PhD Student, Associate Professor, University of Mohaghegh Ardabili, Iran.

2. Assistant Professor, Islamic Azad University, Ardabil

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: f_ahmadpoor@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۸)

چکیده

در این پژوهش تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف *Aegilops biuncialis* از اجداد وحشی گندم، از لحاظ پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر با استفاده از الکتروفورز SDS-PAGE و A-PAGE مورد مطالعه قرار گرفت. میزان تنوع ژنتیکی نی بین اکوتیپ‌ها در مورد گلوتهین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW) ۲۱/۴۰ درصد و در گلوتهین‌های با وزن مولکولی پایین (LMW) ۲۷/۳۰ درصد برآورد شد. میزان تنوع در پروتئین‌های LMW بیشتر از پروتئین‌های HMW بود. اکوتیپ‌های مرند، ماکو، پارس‌آباد، ورزقان و شبستر دارای نوار بالاتر از ۲-HMW و اکوتیپ‌های مرند، ماکو و گرمی دارای نوار مابین نوارهای ۷-HMW و ۸-HMW بودند. در پروتئین‌های گلیادینی بیشترین تنوع نوارها در ناحیه ۵ و کمترین تنوع در ناحیه ۷ مشاهده شد. به دلیل وجود نوارهای ۷-۴۳/۵ و ۷-۴۵ و نیز فراوانی بالای نوارهای ناحیه ۵ که به عنوان شاخص بالای کیفیت گلوتهین مطرح می‌باشد، از *Ae. biuncialis* می‌توان در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود کیفیت آرد گندم استفاده کرد. گروه‌بندی اکوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه کلاستر، آنها را به سه گروه تقسیم کرد. به طوری که اکوتیپ‌های مرند، ماکو و شبستر در گروه اول، اکوتیپ‌های ورزقان و اهر در گروه دوم و اکوتیپ‌های گرمی، پارس‌آباد، مشکین‌شهر و اردبیل در گروه سوم واقع شدند. کمترین فاصله ژنتیکی بین اکوتیپ مشکین‌شهر با اردبیل و بیشترین فاصله ژنتیکی بین اکوتیپ اهر با شبستر و مشکین‌شهر و سپس ماکو با پارس‌آباد مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
گلوتهین
گلیادین
گندم

Aegilops biuncialis

مقدمه

جنس *Aegilops* از اجداد وحشی گندم بوده دارای سطوح پلوئیدی متفاوت (۱۱ گونه دیپلوئید، ۱۱ تتراپلوئید و دو هگزاپلوئید) می‌باشد (Badaeva et al. 2002; Schneider et al. 2005). گونه‌های وحشی اجداد گندم بالاترین میزان تنوع ژنتیکی را در محتوای پروتئین‌های ذخیره‌ای دارند (Nevo and Payne 1993; Ciaffi et al. 1987) که می‌تواند در بهبود کیفیت گندم‌های نان مورد استفاده قرار گیرد. ژن‌های مفید زیادی از گونه‌های آزیلوپس به گندم انتقال یافته است (Gill et al. 1987; Raupp et al. 1994; Cox et al. 1994; Friebe et al. 1994).

Aegilops biuncialis (U^bM^b) گونه تتراپلوئید با ۲۸ کروموزوم می‌باشد که از اجداد دیپلوئید *Ae. comosa* و *Ae. umbellulata* مشتق شده است (Badaeva et al. 2004). این گیاه در کشورهای مدیترانه‌ای و از جمله مناطق شمال غرب ایران می‌روید (Van Slageren 1994) و از نظر مقاومت به ویروس زرد کوتولگی جو (Makkouk et al. 1994)، مقاومت به زنگ زرد (Damania and Pecetti 1990)، زنگ قهوه‌ای (Dimov et al. 1993)، تحمل به تنش خشکی (Molnar et al. 2004)، تنش شوری (Colmer et al. 2006) و کیفیت بالای پروتئین (Tan et al. 2009) حائز اهمیت است.

پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه شامل گلوتنین، گلیادین، آلبومین/گلوبولین و پروتئین‌های محلول در آب و نمک از پروتئین‌های ذخیره‌ای هستند که فعالیت آنزیمی ندارند. گلوتن از جمله پروتئین‌هایی است که باعث چسبندگی در تهیه خمیر نان از آرد می‌شود (Georges-Louis 1996). الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای با ژل پلی‌آکرلامید در مطالعه تنوع ژنتیکی به کار می‌رود. الکتروفورز SDS-PAGE روشی کم‌هزینه، سریع و تکرارپذیر در مطالعه پروتئین‌ها است که به عنوان پرکاربردترین روش در میان روش‌های الکتروفورزی مطرح است. قابلیت تفکیک‌کنندگی بسیار بالای روش SDS-PAGE عمدتاً ناشی از وجود سدیم دودسیل سولفات (SDS) و ویژگی مناسب ژل پلی-آکرلامید در غربال پروتئین‌های مختلف است. فاصله طی شده توسط پروتئین‌ها در الکتروفورز با وزن مولکولی آنها تناسب دارد که اساس تعیین وزن مولکولی در روش SDS-PAGE را تشکیل

می‌دهد. بدین ترتیب در جریان الکتروفورز دو نوع پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW) و پایین (LMW) به وجود می‌آید (Streyr 2002). تحقیقات ژنتیکی نشان داد که در گندم هگزاپلوئید، زیرواحدهای HMW گلوتنین، توسط ژن‌های x و y که شامل مکان ژنی $Glu-A_1$ ، $Glu-B_1$ و $Glu-D_1$ است کد می‌شوند (Lawrence et al. 1981; Shewry et al. 2003b). زیرواحدهای گلوتنین‌های با وزن مولکولی پایین ۶۰ درصد گلوتنین‌های کل گندم را تشکیل می‌دهند و همراه با HMW-GS در استحکام ساختار گلوتنین نقش دارند (Gianibelli et al. 2001; Gras et al. 2001). این پروتئین‌ها که توسط ژن‌های پیوسته با مکان‌های ژنی $Glu-A_3$ ، $Glu-B_3$ و $Glu-D_3$ روی بازوی کوتاه کروموزوم‌های گروه هومبولگ یک کد می‌شوند، قرار دارند (Singh and Shepherd 1988). تعدادی از محققان نیز گزارش کردند که بین LMW-GS که توسط مکان‌ژنی $Glu-3$ و مکان‌ژنی $Gli-1$ (ω و γ -گلیادین) کد می‌شود و نیز مکان‌ژنی $Gli-2$ که کدکننده α و β می‌باشد و روی بازوی کوتاه کروموزوم‌های گروه یک قرار دارد، همبستگی نزدیکی وجود دارد (Payne et al. 1984; Singh and Shepherd 1984; Metakovsky et al. 1997).

گلیادین‌ها به ۴ گروه مهم α ، β ، γ و ω گروه‌بندی می‌شوند. اکثر نوارهای گلیادین در شش مکان ژنی اصلی در کروموزوم‌های هومبولگ گروه یک ($Gli-1$) و شش ($Gli-6$) گندم جای دارند (Payne 1987). این آلل‌ها همچنین بعضی مکان‌های ژنی کوچک اثر با عنوان $Gli-3$ ، $Gli-5$ و $Gli-6$ دارند که تعداد کمی از نوارهای گلیادین را کنترل می‌کنند (Pogna et al. 1993; Metakovsky et al. 1997). دو نوار جدید $Gli-4$ و $Gli-5$ نیز روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱D گزارش شده است (Rodriguez and Carrillo 1996). گلیادین‌های ω و اکثر گلیادین‌های γ پیوستگی نزدیکی با مکان‌های ژنی گلوتنین‌های LMW دارند. گلیادین‌های α نیز با اکثر گلیادین‌های β پیوسته هستند (Payne et al. 1984). نوارهای گلیادینی γ با حرکت نسبی ۴۲ و ۴۵ نشانگرهای ژنتیکی برای کیفیت مطلوب گلوتن محسوب می‌شوند که با نوارهای LMW گلوتنین که در مکان ژنی $Glu-B_3$ روی کروموزوم ۱B قرار دارند، پیوستگی ژنتیکی پایداری دارند

نوارهای گلوتهین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) و نوارهای گلوتهین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) با استفاده از روش الکتروفورز SDS-PAGE به طور جداگانه بر روی ژل ۱۰ درصد بر اساس روش (Laemmli 1970) که توسط Fullington (1983) et al. اصلاح شده، مورد بررسی قرار گرفت. تهیه محلول‌های پایه بر اساس روش Fullington et al. (1983) با اعمال تغییرات جزئی به صورت زیر انجام گرفت:

جهت تهیه بافر استخراج پروتئین‌های HMW (۳x) ۱۸/۷۵ میلی‌لیتر محلول C (۳/۰۳ گرم تریس و ۰/۲ گرم سدیم دودسیل سولفات (SDS) که با آب مقطر به حجم نهایی ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد)، شش گرم SDS و ۰/۲۵ گرم کوماسی بلو را در ۳۶/۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده، بعد از تشکیل محلول شفاف، ۳۰ میلی‌لیتر گلیسرول به آن اضافه شد. به ۰/۰۴ گرم از آرد بذور یک بوته، ۳۰۰ میکرولیتر محلول عصاره‌گیر شامل ۸ میلی‌لیتر آب مقطر، بافر استخراج ۳x و ۰/۶ میلی‌لیتر مرکاپتواتانول اضافه کرده، بعد از ورتکس و سانتریفیوژ مایع شفاف رویی جدا شد.

پروتئین‌های LMW با ۰/۰۲ گرم نمونه آردی از بذور یک بوته در ۱۰۰ میکرولیتر محلول پروپانول (یک گرم دی تیوتریتول (DDT) در ۵۰ میلی‌لیتر پروپانول که در محلول تریس ۸ درصد حل و حجم نهایی به ۱۰۰ رسید) استخراج و هم حجم آن بافر استخراج شامل دو گرم SDS، ۴۰ میلی‌لیتر گلیسرول و یک گرم آبی-بروموفنول در محلول تریس ۸ درصد که با آب مقطر به حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شده بود، اضافه و ورتکس شد. بعد از تهیه ژل نمونه‌های استخراج شده در چاهک‌ها لود و با جریان ثابت ۲۰-۳۰ میلی‌آمپر الکتروفورز شد. سپس ژل‌ها در محلول رنگ آبی کوماسی R-۲۵۰ رنگ آمیزی شدند. الکتروفورز A-PAGE به روش (Metakovsky and Novoselskaya 1991) انجام گرفت. به طوری که از هر اکوتیپ مورد بررسی (جدول ۱) بذرها را انتخاب و هر بذر به طور جداگانه آرد شد. به منظور استخراج گلیادین‌ها، ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد به آرد اضافه و بعد از ورتکس و سانتریفیوژ محلول بالایی را برداشته و هم حجم با آن بافر استخراج اضافه شد. بافر استخراج شامل ۶/۵ گرم ساکارز و مقداری پیرونین بود که با بافر الکتروود به حجم ۱۰

(Damidoux et al. 1987). مطالعه اجزا گلیادین‌ها در گندم علاوه بر ارایه اطلاعات مفید در مورد شناسایی ارقام و خلوص آن‌ها (Branlard and Dardevet 1985; Metakovsky et al. 1997;) (Branlard et al. 2001)، به عنوان شاخص‌های کیفیت آرد و خواص کیفی نان نیز کاربرد زیادی در برنامه‌های اصلاحی دارد. همچنین روشی موثر برای انگشت‌نگاری تنوع گیاهی (Lookhart a,b 2002; MirAli et al. 2002; Bean and 2000) و کشف روابط ژنتیکی بین گونه‌ها (Haider et al. 2010) می‌باشد.

گونه‌های آزیلوپس منبع بسیار غنی از واریانت‌های جدید نوارهای گلوتهین با وزن مولکولی بالا هستند اما موارد موفق از انتقال نوارهای گلوتهین با وزن مولکولی بالا از گونه‌های آزیلوپس به داخل ژنوم گندم اندک است (Yan et al. 2002; Wan et al. 2005). زیرواحدهای HMW گلوتهین توسط (Tan et al. 2009) از *Ae. biuncialis* به گندم انتقال یافت. آنها لاین ۲-۳-۱۵ را از تلاقی لاین CN₁₉ گندم و *Ae. biuncialis* تولید کردند که همه نوارهای ۷+۸ و ۱۲+۲ HMW والد گندم و تعداد بیشتری از نوارهای HMW والد *Ae. biuncialis* را دارا بود. همچنین از لحاظ الگوی نوارهای گلیادینی در A-PAGE این لاین تقریباً تمامی باندهای هر ۴ منطقه α ، β ، γ و ω گلیادین را از هر دو والد ظاهر کرد.

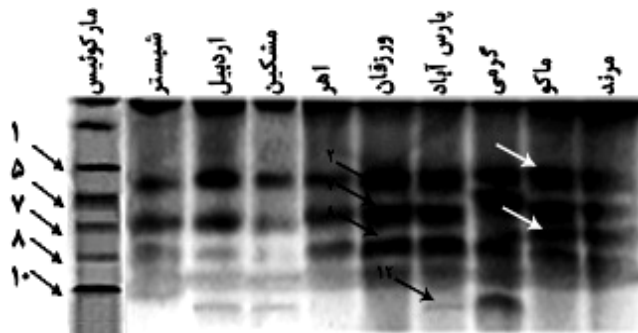
با توجه به اینکه مناطق شمال غرب ایران از لحاظ رویش گونه‌های مختلف آزیلوپس و از جمله گونه *Ae. biuncialis* بسیار غنی است و اطلاعات کمی از نظر تنوع ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مختلف این گونه در این مناطق در دسترس می‌باشد در این تحقیق الگوی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف این گونه از خویشاوندان وحشی گندم از لحاظ تنوع پروتئین‌های ذخیره‌ای آنها مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

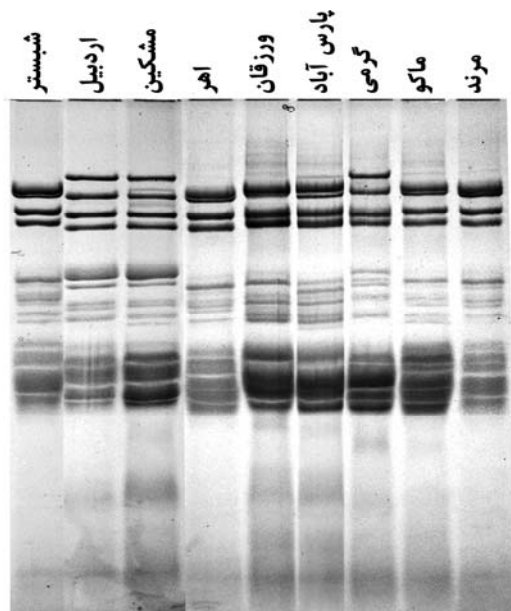
اکوتیپ‌های گونه *Ae. biuncialis* از مناطق مختلف شهرهای شمال غرب کشور (اردبیل و آذربایجان شرقی) براساس مشخصات مورفولوژیکی (Van Slageren 1994) و سیتوژنتیکی (Ahmadpoor et al. 2012) شناسایی و جمع‌آوری شد. از هر اکوتیپ (جدول ۱) تعدادی بذر از بوته‌های مختلف انتخاب و

نتایج و بحث

در الکتروفورز پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW) (شکل ۱)، هشت نوار تفکیک شد که این تعداد در الکتروفورز پروتئین‌های با وزن مولکولی پایین (LMW) (شکل ۲) ۱۹ نوار بود. میزان تنوع ژنتیکی در پروتئین‌های HMW، ۲۱/۴۰ درصد (جدول ۲) و در پروتئین‌های LMW ۲۷/۳۰ درصد برآورد شد (جدول ۳).



شکل ۱- تفکیک اجزا پروتئین‌های HMW در SDS-PAGE در نه اکوتیپ مورد بررسی از گونه *A. biuncialis* (فلش‌های سفید نشانگر دو نوار بالاتر از نوار ۲-HMW و یک نوار پایین ۷-HMW و ۸-HMW می‌باشد)



شکل ۲- الکتروفورز پروتئین‌های LMW در SDS-PAGE در نه اکوتیپ مورد بررسی از گونه *Ae. biuncialis*

پروتئین‌های گلیادین در محیط A-PAGE به چهار گروه α ، β ، γ و ω تفکیک شدند و داده‌های حاصل از الکتروفورز این پروتئین‌ها (شکل ۳) برای هر یک از اکوتیپ‌های موجود نشان داد که

میلی‌لیتر رساننده شد. برای تهیه محلول ژل نیز ۴/۱۵ گرم آکریلامید، ۰/۲۰۷۵ گرم بیس آکریلامید و ۰/۰۵ گرم اسیداسکوربیک را در بافر الکتروود حل کرده، حجم نهایی توسط بافر به ۵۰ میلی‌لیتر رسید. در حین کار ۵۰ میکرولیتر محلول سولفات آهن III ۰/۰۰۰۰۶۷ درصد و ۸۰ میکرولیتر محلول آب اکسیژنه (۹۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه و ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه) به آن اضافه و در دستگاه الکتروفورز ریخته شد. بعد از اتمام الکتروفورز در ۲۲۰ ولت طی ۲۰ دقیقه اول و سپس با ۵۵۰ ولت، ژل‌ها در محلول تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد قرار گرفت. در نهایت ژل‌ها در محلول رنگ ۰/۰۵ گرم آبی کوماسی، ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و ۸۰ گرم تری‌کلرواستیک اسید که در نهایت با آب دیونیزه به حجم یک لیتر رسیده بود) رنگ‌آمیزی شدند. جهت تهیه بافر الکتروود، ۱/۵ گرم لاکتات آلومینیوم را با آب دیونیزه در ۹۰۰ میلی‌لیتر حل کرده بعد از تنظیم pH با اسیدلاکتیک ۸۵ درصد در pH=۳/۱ حجم نهایی به یک لیتر رسانده شد.

در الکتروفورز پروتئین‌های گلیادین واریته بزوستایا از گندم که یک لاین خالص بوده و نوارهای آن بر اساس حرکت نسبی نامگذاری شده است، به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. ضمن اینکه گندم دوروم نیز به دلیل دارا بودن آلل ۴۵-۷ که شاخصی برای کیفیت گلوتن می‌باشد، به همراه واریته بزوستایا استفاده شد. نوارهای تمامی جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس این دو واریته و به صورت داده‌های یک و صفر به ترتیب وجود و عدم وجود نوار امتیازدهی شد. تقسیم‌بندی نواحی گلیادین بر طبق (Pena et al. 1995) انجام شد. همچنین در الکتروفورز پروتئین‌های HMW واریته مارکونیس گندم به عنوان شاهد (Kazemie and Bushuk 1990) استفاده شد و نوارهای آن براساس وزن مولکولی ارائه شده توسط (Lagrain et al. 2013) و حرکت نسبی آنها نامگذاری و بر این اساس امتیازدهی شد. در نهایت ماتریس فاصله ژنتیکی با کمک نرم‌افزار NTSYS و تنوع ژنتیکی (Nei 1978) با استفاده از نرم‌افزار Popgen32 براساس فرمول زیر محاسبه شد:

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

جدول ۱- نام و محل جمع‌آوری اکوتیپ‌های مورد مطالعه از گونه *Ae. biuncialis*

شماره	نام اکوتیپ	محل جمع‌آوری
۱	مروند	استان آذربایجان شرقی، مروند کیلومتر پنج جاده مروند، تبریز
۲	ماکو	استان آذربایجان غربی، ماکو، کیلومتر ۸۵ جاده ماکو به مروند
۳	گرمی	استان اردبیل، گرمی، کیلومتر پنج جاده گرمی به بیله سوار
۴	پارس آباد	استان اردبیل، پارس‌آباد، کیلومتر ۱۵ جاده پارس‌آباد به اردبیل
۵	ورزقان	استان آذربایجان شرقی، ورزقان، کیلومتر ۳۵ جاده ورزقان به اهر
۶	اهر	استان آذربایجان شرقی، اهر، کیلومتر ۲۵ جاده مشکین شهر به اهر
۷	مشکین شهر	استان اردبیل، مشکین‌شهر، ۳۵ کیلومتری مشکین‌شهر به طرف اردبیل
۸	اردبیل	استان اردبیل، اردبیل، شهرک کوثر
۹	شبستر	استان آذربایجان شرقی، شبستر، روستای خواجه مرجان

جدول ۲- فراوانی نوارهای پروتئین HMW و تنوع ژنتیکی نی SDS-PAGE بین نه اکوتیپ مورد بررسی از گونه *Ae. biuncialis*

میانگین	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	نوار
۰/۴۴	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۲۲	۱/۰۰	۰/۶۷	۰/۶۷	۱/۰۰	فراوانی
۰/۲۱۴	۰/۴۹	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۳۴	۰/۰۰	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۰۰	میزان تنوع بین اکوتیپ‌ها

۷-HMW و همه اکوتیپ‌ها به جز اکوتیپ مشکین‌شهر دارای نوار ۸-HMW بودند. نوارهای ۱۲+۲ در ارتباط با کیفیت ضعیف نانوائی (Hamer et al. 1992) می‌باشند که به وسیله ژن *Glu-D₁* بازوی بلند کروموزوم کد می‌شود و نوارهای ۸+۷ به وسیله ژن *Glu-B₁* بازوی بلند کروموزوم کد می‌شود (Abdmishani et al. 1999). در کل تنها اکوتیپ‌های پارس‌آباد، مشکین‌شهر و اردبیل نوارهای ۱۲+۲ و همه اکوتیپ‌ها بجز مشکین‌شهر نوارهای ۸+۷ را آشکار کردند. طبق یافته‌های Tan et al. (2009) در تلاقی بین *Ae. biuncialis* و *T. aestivum* آمفی‌پلوئیدی به دست آمد که دارای نوار بالاتر از نوار دو بود. این نوار در اکوتیپ‌های مروند، ماکو، پارس‌آباد، ورزقان، اهر، مشکین‌شهر و اردبیل مشاهده شد. بنابراین اکوتیپ پارس‌آباد به دلیل دارا بودن جفت نوارهای ۲-۸-HMW و ۱۲-HMW از نظر کیفیت نانوائی ضعیف بود اما از آنجا که برای کیفیت آرد غالبیت نوارها به ترتیب ۷+۸ و سپس ۱۲+۲ می‌باشد (Gregova et al. 1970)، بر این اساس اکوتیپ‌های مروند، ماکو، ورزقان و اهر دارای ژن‌های مطلوب در اصلاح کیفیت نانوائی گندم هستند.

بیشترین تعداد نوارهای مشاهده شده و میزان تنوع در کل اکوتیپ‌های مورد بررسی، مربوط به نوارهای ناحیه ۵ بود و کمترین آن را نوارهای ناحیه ۷ به خود اختصاص داده‌اند (جدول ۴). در الکتروفورز پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW) (شکل ۱)، از بین هشت نوار تفکیکی کمترین فراوانی مربوط به نوار پنجم بود (جدول ۲). بالاترین میزان تنوع با ۴۹ درصد مربوط به نوار هشتم بود. در تعدادی از اکوتیپ‌های مورد بررسی یک نوار HMW در بالاتر از نوار ۲-HMW و یک نوار مابین نوارهای ۷-HMW و ۸-HMW مشاهده شد که مطابق با گزارش Tan et al. (2009) بود. بر این اساس، اکوتیپ‌های مروند، ماکو، پارس‌آباد، ورزقان و شبستر دارای نوار بالاتر از ۲-HMW بودند. اکوتیپ‌های مروند، ماکو و گرمی نیز دارای یک نوار مابین نوارهای ۷-HMW و ۸-HMW (نوارهای مربوط به کیفیت مطلوب نانوائی گلوتن (Carrilo et al. 1990; Kolster et al. 1991)) بودند. در ضمن همه اکوتیپ‌ها به جز اکوتیپ‌های گرمی و شبستر دارای نوار ۲-HMW و اکوتیپ‌های گرمی، پارس‌آباد، مشکین‌شهر و اردبیل دارای نوار ۱۲-HMW بودند. همچنین همه اکوتیپ‌ها دارای نوار

جدول ۳- فراوانی نوارهای پروتئین LMW و تنوع ژنتیکی نی بین نه اکوتیپ مورد بررسی از گونه *Ae. biuncialis*

میانگین	۱۹	۱۸	۱۷	۱۶	۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	شماره نوار
۱/۰۰	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۶۷	۱/۰۰	۰/۵۵	۰/۱۱	۰/۷۸	۰/۸۹	۰/۳۳	۰/۵۵	۰/۸۹	۰/۶۷	۰/۸۹	۰/۱۱	۰/۱۰	۱/۰۰	۰/۷۸	۰/۴۴	۰/۴۴	فراوانی
۰/۲۷۳	۰/۰۰	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۴۴	۰/۰۰	۰/۴۹	۰/۲۰	۰/۳۴	۰/۲۰	۰/۴۴	۰/۴۹	۰/۲۰	۰/۴۴	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۳۴	۰/۴۹	میزان تنوع بین اکوتیپ‌ها

جدول ۴- تعداد نوارهای مشاهده شده و نوارهای شاخص کیفیت در الکتروفورز A-PAGE در نه اکوتیپ مورد بررسی از *Ae. biuncialis*

اکوتیپ	حضور شاخص کیفیت		تعداد نوارهای مشاهده			
	$\gamma-43/5$	$\gamma-45$	ω	γ	β	α
مرند	۰	۱	۶	۲	۴	۴
ماکو	۰	۱	۸	۲	۴	۳
گرمی	۰	۰	۶	۱	۲	۲
پارس‌آباد	۰	۰	۵	۲	۳	۳
ورزقان	۰	۰	۶	۱	۴	۳
اهر	۰	۰	۸	۲	۲	۲
مشکین‌شهر	۱	۱	۵	۲	۳	۵
اردبیل	۰	۱	۵	۲	۳	۲
شبستر	۰	۱	۵	۲	۴	۵

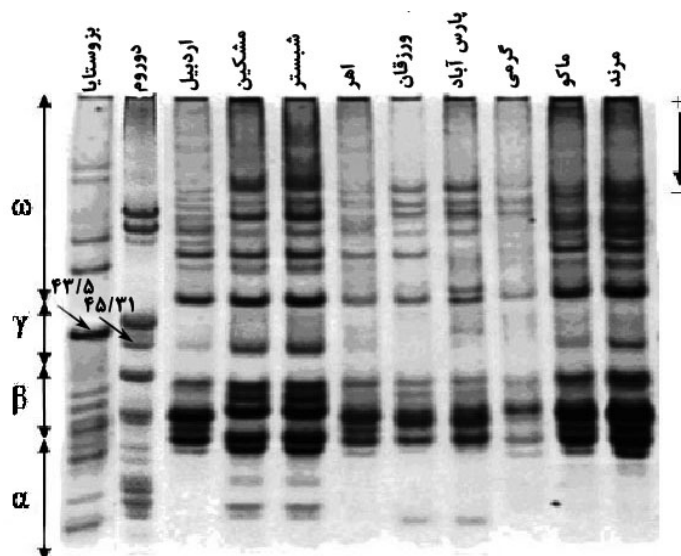
نوار بودند. بیشترین تعداد نوار در ناحیه ω مشاهده شد. به طوری که در این ناحیه بیشترین تعداد نوار در اکوتیپ‌های ماکو و اهر با هشت نوار و کمترین نوار (پنج نوار) در اکوتیپ‌های پارس‌آباد، مشکین‌شهر، اردبیل و شبستر مشاهده شد (جدول ۴).

Ozgen and Peskircioglu (1999) نیز در الکتروفورز A-PAGE پروتئین‌های گلیادین گونه‌های *Ae. biuncialis*، *Ae. columnaris*، *Ae. cylindrica*، *Ae. triaristata* و *Ae. ovata* مشاهده کردند که در ناحیه ω بیشترین تعداد نوار وجود دارد اما در ناحیه α گونه‌های *Ae. columnaris* و *Ae. triaristata* و در ناحیه β گونه‌های *Ae. cylindrica* و *Ae. triaristata* فاقد نوار بودند. با وجود اینکه در کل اکوتیپ‌ها سه نوع نوار در ناحیه γ وجود داشت (جدول ۵) اما در اکثر اکوتیپ‌ها دو نوار در این ناحیه مشاهده شد. اما در گونه *Ae. biuncialis* تا چهار نوار نیز در ناحیه γ گزارش شده است (Ozgen and Peskircioglu 1999). قابل ذکر است که Hassani et al. (2006) در گونه *Ae. tauschii* پنج نوار در این ناحیه مشاهده کردند. در ناحیه β اکوتیپ‌های مرند، ماکو، ورزقان و شبستر چهار نوار، اکوتیپ‌های پارس‌آباد، مشکین‌شهر و اردبیل

در الکتروفورز پروتئین‌های با وزن مولکولی پایین (LMW) (شکل ۲) بیشترین فراوانی را نوارهای سوم، چهارم، پانزدهم و نوزدهم و کمترین فراوانی را نوار پنجم و سیزدهم به خود اختصاص دادند (جدول ۳). بالاترین میزان تنوع در این پروتئین‌ها مربوط به نوارهای ۱، ۹ و ۱۴ بود.

طبق نظر Flate and Uhlen (2003) حدوداً ۲۰ درصد تعداد نوارهای گلوتمینی را به گلوتمین‌های با وزن مولکولی بالا و ۸۰ درصد گلوتمین‌های با وزن مولکولی پائین تشکیل می‌دهد که با توجه به فراوانی نوارهای HMW و LMW (جدول ۲ و ۳) نتایج حاصل موید آن است. در اکوتیپ‌های *Ae. biuncialis* مورد بررسی در این تحقیق میزان تنوع در پروتئین‌های LMW بیشتر از پروتئین‌های HMW بود (جدول ۲ و ۳).

در الکتروفورز پروتئین‌های گلیادین (شکل ۳)، در تمامی نواحی ω ، γ ، β و α نوار مشاهده شد که مطابق با تحقیقات Ozgen and Peskircioglu (1999) بود اما Kozub et al. (2012) اعلام کردند در تمامی اکوتیپ‌های مورد بررسی در این گونه در نواحی ω ، γ و β نوار وجود داشت اما در ناحیه α تنها بعضی از توده‌ها دارای



شکل ۳- تفکیک اجزا پروتئین گلیادین در محیط A-PAGE در نه اکوتیپ مورد بررسی از گونه *Ae. biuncialis*

این رقم در تحقیقات (Jam Baranduzi et al. 2013) در کل جمعیت‌های مورد بررسی در گونه‌های *Ae. umbellulata*، *Ae. crassa*، *Ae. triuncialis*، *Ae. cylindrica tauschii* و *Ae. biuncialis* ۸۹/۱۷ درصد بوده است. چندشکلی بالا نشان‌دهنده میزان تنوع بالا در بین اکوتیپ‌ها می‌باشد که با نتایج Soofalian (2009) and Valizadeh (2009) در بررسی میزان بالای تنوع ژنتیکی در اجداد وحشی گندم در ایران همخوانی دارد. بنابراین *Ae. biuncialis* به عنوان یکی از خویشاوندان وحشی گندم برای غنی‌سازی میزان تنوع ژنتیکی ژرم پلاسما گندم می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (Jam Baranduzi et al. 2013).

بررسی وجود نوارهای ۴۵-γ و در درجه بعدی ۴۳/۵-γ که به ترتیب به عنوان شاخص کیفیت گلوتن در گندم دوروم و گندم نان به شمار می‌روند (Pena et al. 1995; Rashed et al. 2007) در هر یک از اکوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد که اکوتیپ‌های مرند، ماکو، شبستر، مشکین‌شهر و اردبیل دارای نوار ۴۵-γ بودند. در صورتی که اکوتیپ‌های گرمی، پارس‌آباد، ورزقان و اهر فاقد این نوار بود. از آنجا که نوار ۴۵-γ مربوط به شاخص کیفیت بالای گلوتن می‌باشد و اکوتیپ‌های دارای نوار ۴۵-γ کیفیت آرد خوبی دارند (Rashed et al. 2007)، اکوتیپ‌های مرند، ماکو، شبستر، مشکین‌شهر و اردبیل را می‌توان به دلیل وجود

سه نوار و در اکوتیپ‌های اهر و گرمی تنها دو نوار مشاهده شد. همچنین در ناحیه α بیشترین تعداد نوار (پنج نوار) مختص اکوتیپ‌های مشکین‌شهر و شبستر و کمترین تعداد (دو نوار) مختص اکوتیپ‌های گرمی، اهر و اردبیل بود (جدول ۴). Ozgen and Peskircioglu (1999) وجود دو نوار در این ناحیه را گزارش کردند. در کل در الکتروفورز پروتئین‌های گلیادین این گونه در مجموع ۲۴ نوار تفکیک شد. اما (Jam Baranduzi et al. 2013) در الکتروفورز پروتئین‌های گلیادین ۲۳ نوار در این گونه مشاهده کردند که با تعداد نوار در گونه‌های *Ae. umbellulata*، *Ae. crassa*، *Ae. triuncialis* و *Ae. cylindrica tauschii* همخوانی دارد و در مقایسه با سایر گونه‌ها بیشترین تعداد بود به طوری که در گونه *Ae. triuncialis* ۲۰ نوار و گونه *Ae. crassa* ۹ نوار تفکیک شده بود. بیشترین میزان فراوانی نوارها در بین اکوتیپ‌ها مربوط به نوار ۳۱/۲۰-ω، ۱۵/۳۵-ω و ۱۷/۷۶-α بود. بیشترین تنوع نوارها را نوارهای ناحیه ω به خود اختصاص داد و کمترین تنوع نیز مربوط به نوارهای ناحیه γ بود (جدول ۵). بالاترین میزان تنوع در بین اکوتیپ‌ها با ۴۹ درصد در نوارهای ۹۷/۱۷-ω، ۷۸/۲۵-ω، ۳۱/۴۵-γ و ۳۱/۹۵-α مشاهده شد (جدول ۵) که تقریباً با تحقیقات (Jam Baranduzi et al. 2013) در الکتروفورز پروتئین‌های گلیادین (۴۳ درصد) همخوانی دارد. میزان چندشکلی نیز ۶۸/۷۳ درصد بدست آمد که

جدول ۵- فراوانی و تنوع نوارهای مشاهده شده بر اساس حرکت نسبی در نه اکوتیپ از *Ae. biuncialis* در نوارهای گلیادینی

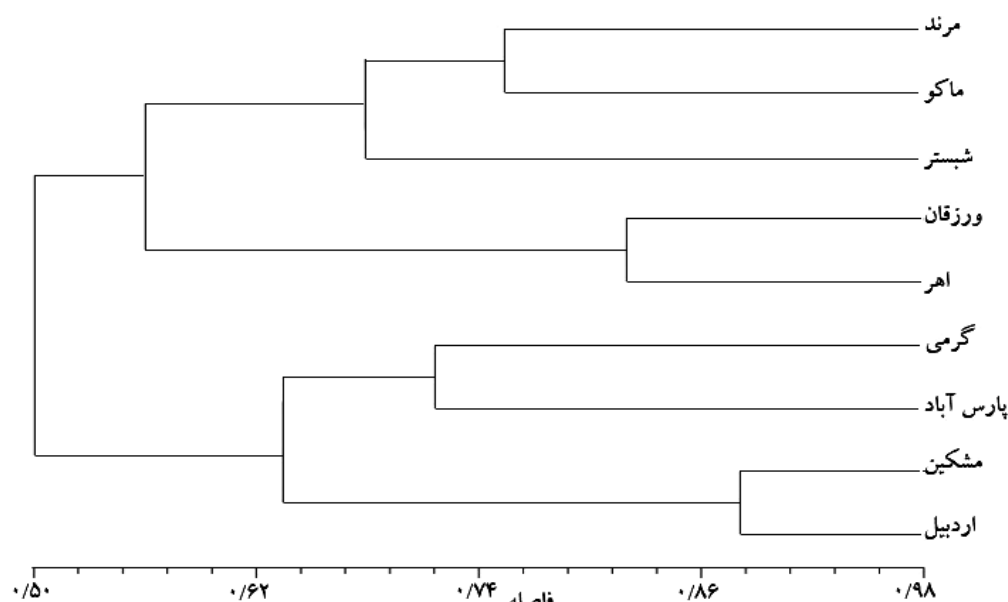
فراوانی	میزان تنوع بین اکوتیپ‌ها	نوار	فراوانی	میزان تنوع بین اکوتیپ‌ها	نوار	فراوانی	میزان تنوع بین اکوتیپ‌ها	نوار
۰/۸۹	۰/۲۰	β -۷۰/۳۱	۰/۳۳	۰/۴۴	ω -۳۱/۲۵	۰/۳۳	۰/۴۴	ω -۴/۶۹
۰/۳۳	۰/۴۴	β -۷۲/۸۷	۱/۰۰	۰/۰۰	ω -۳۵/۱۵	۰/۳۳	۰/۴۴	ω -۶/۲۵
۰/۷۸	۰/۳۴	α -۷۴/۲۱	۰/۲۲	۰/۳۴	ω -۳۷/۵۰	۰/۵۶	۰/۴۹	ω -۱۷/۹۷
۱/۰۰	۰/۰۰	α -۷۶/۱۷	۰/۱۱	۰/۲۰	γ -۴۳/۵	۱/۰۰	۰/۰۰	ω -۲۰/۳۱
۰/۶۷	۰/۴۴	α -۷۸/۱۲	۰/۵۶	۰/۴۹	γ -۴۵/۳۱	۰/۲۲	۰/۳۴	ω -۲۱/۸۷
۰/۳۳	۰/۴۴	α -۸۳/۵۹	۰/۳۳	۰/۴۴	γ -۵۵/۴۶	۰/۶۷	۰/۴۴	ω -۲۳/۴۳
۰/۲۲	۰/۳۴	α -۸۹/۸۴	۰/۸۹	۰/۲۰	β -۶۴/۰۶	۰/۵۶	۰/۴۹	ω -۲۵/۷۸
۰/۵۶	۰/۴۹	α -۹۵/۳۱	۰/۳۳	۰/۴۴	β -۶۸/۹۸	۰/۷۸	۰/۳۴	ω -۲۹/۶۹

جدول ۶- فاصله ژنتیکی نی پروتئین‌های LMW, HMW و گلیادینی در نه اکوتیپ مورد بررسی از *Ae. biuncialis*

شبه‌ستر	اردبیل	مشکین‌شهر	اهر	ورزقان	پارس‌آباد	گرمی	ماکو	مرند	فاصله ژنتیکی نی
								*	مرند
							*	۰/۲۴	ماکو
						*	۰/۵۳	۰/۴۳	گرمی
					*		۰/۶۳	۰/۵۳	پارس‌آباد
				*	۰/۴۳	۰/۴۰	۰/۲۲	۰/۴۰	ورزقان
			*	۰/۱۹	۰/۶۰	۰/۵۶	۰/۳۵	۰/۵۰	اهر
		*	۰/۶۴	۰/۴۰	۰/۳۵	۰/۳۸	۰/۴۷	۰/۵۰	مشکین‌شهر
	*	۰/۱۰	۰/۴۷	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۴۰	۰/۵۶	۰/۵۳	اردبیل
*	۰/۴۳	۰/۳۵	۰/۶۷	۰/۴۳	۰/۳۸	۰/۲۹	۰/۳۲	۰/۳۵	شبه‌ستر

نوار ۴۵- γ به عنوان اکوتیپ‌هایی با کیفیت بالای گلوتن معرفی کرد. نوار ۴۳/۵- γ نیز به عنوان شاخصی برای کیفیت (Pena et al. 1995) تنها در اکوتیپ پارس‌آباد وجود داشت (شکل ۳ و جدول ۴). در کل نوار ۴۳/۵ در مقایسه با نوار ۴۵ کمترین فراوانی را داشت که با نتایج (Shahbazi 2000) در مطالعه گندم‌های بومی آذربایجان مطابقت داشت. از آنجا که در هیچ یک از اکوتیپ‌ها، نوار ۴۲- γ و ۴۰- γ را که با کیفیت پایین گلوتن در ارتباط هستند (Rashed et al. 2007)، مشاهده نشد (جدول ۵) و نیز با توجه به اینکه بیشترین میزان فراوانی را نوارهای ناحیه ω که به شاخص کیفیت بالای گلوتن مرتبط می‌شود (Rashed et al. 2007) به

خود اختصاص دادند، می‌توان اکوتیپ‌های *Ae. biuncialis* را در اصلاح کیفیت گلوتن گندم نان به کار برد. با توجه به ماتریس فاصله ژنتیکی هر سه پروتئین LMW, HMW و گلیادین‌ها (جدول ۶) اکوتیپ مشکین‌شهر با اکوتیپ اردبیل و در درجه بعدی اکوتیپ ورزقان با اکوتیپ اهر و سپس اکوتیپ مرند با اکوتیپ ماکو فاصله ژنتیکی کمتری داشتند. همچنین اکوتیپ اهر با اکوتیپ شبه‌ستر و در درجه بعدی اکوتیپ اهر با مشکین‌شهر و سپس اکوتیپ ماکو با پارس‌آباد بیشترین فاصله ژنتیکی را نشان دادند. گروه‌بندی اکوتیپ‌ها از نقطه نظر پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA (شکل ۴)



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نه اکوتیپ مورد مطالعه در بررسی پروتئین‌های LMW، HMW و A-PAGE به روش UPGMA

منابع

- Abdmishani S, Shahnejat Boushehri AA (1999) Advanced plant breeding. 2nd Vol. University of Tehran. (In Persian).
- Ahmadpoor F, Asghari-Zakaria R, Shahbazi H (2012) Investigation of karyological characteristics in several and populations of *Aegilops biuncialis*. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. Published by: Research Institute of Forests and Rangelands 20: 212-224.
- Badaeva ED (2002) Evaluation of phylogenetic relationships between five polyploid *Aegilops* L. species of the U-genome cluster by means of chromosome analysis. Russian Journal of Genetics 38: 664-675.
- Badaeva ED, Amosova AV, Samatadze TE, Zoshchuk SA, Shostak NG, Chikida NN, Zelenin AV, Raupp WJ, Friebe B, Gill BS (2004) Genome differentiation in *Aegilops*. 4. Evolution of the U-genome cluster. Plant Systematics and Evolution 246: 45-76.
- Bean SR, Lookhart GL (2000) Ultrafast capillary electrophoretic analysis of cereal storage proteins and its applications to protein characterization and cultivar differentiation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 344-353.
- Branlard G, Dardevet M (1985) Diversity of grain proteins and bread wheat quality I. Correlation between gliadin bands and flour quality characteristics. Journal of Cereal Science 3: 329-343.

براساس فاصله اقلیدسی، آنها را به سه گروه تقسیم کرد به طوری- که اکوتیپ‌های مرند، ماکو و شبستر در گروه اول، اکوتیپ‌های ورزقان و اهر در گروه دوم، و اکوتیپ‌های گرمی، پارس آباد، مشکین‌شهر و اردبیل در گروه سوم قرار گرفتند. در کل اکوتیپ-های همجوار با هم در یک گروه قرار گرفتند و فاصله ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه تا حدود زیادی از فاصله جغرافیایی آنها تبعیت می‌کرد.

با توجه به وجود نوار مابین نوارهای HMW-۷ و HMW-۸ و نوارهای ۴۵-۷ و ۴۳-۵ (مربوط به نوارهای کیفیت مطلوب گلوتن) و عدم وجود نوارهای ۱۲+۲ و نوارهای ۴۲-۷ و ۴۰-۷ (در ارتباط با کیفیت پایین گلوتن) و نیز به دلیل فراوانی بالای نوارهای ناحیه ۱۱ به عنوان شاخص کیفیت بالای گلوتن در اکوتیپ‌های مورد بررسی، می‌توان پیشنهاد کرد که استفاده از اکوتیپ‌های *Ae. biuncialis* در برنامه‌های اصلاح کیفیت گلوتن گندم نان سودمند بوده و از تنوع بالای پروتئینی موجود در بین مناطق مورد مطالعه، در جهت گزینش و تلاقی اکوتیپ‌های برتر *Aegilops* با گندم به منظور انتقال ژن‌های مفید بهره برد.

- Branlard G, Dardevet M, Saccornano R, Lagoutte F, Gourdon J (2001) Genetic diversity of seed storage proteins and bread wheat quality. In: Z. Bedo and L. Lang (eds.), *Wheat in a Global Environment*, Kluwer Academic publishers, Netherlands pp. 157-169.
- Brown JWS, Kemble RJ, Law CN, Flavell RB (1979) Control of endosperm proteins in *Triticum aestivum* (var. Chinese Spring) and *Aegilops umbellulata* by homoeologous group one chromosomes. *Journal of Genetics* 93:189-200.
- Carrilo JM, Rousset M, Qualset CO, Kasarda CC (1990) Use of recombinant inbred lines of wheat for study of association of HMW glutenin subunit alleles to quantitative traits. I. grain yield and prediction test. *Theoretical and Applied Genetics* 79: 321-335.
- Ciaffi M, Laiandra D, Porceddu E, Benedettelli S (1993) Storage-protein variation in wild emmer wheat (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) from Jordan and Turkey. I. Electrophoretic characterization of genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 86:474-480.
- Colmer TD, Flowers TJ, Munns R (2006) Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany* 57: 1059-1078.
- Cox TS, Raupp WJ, Gill BS (1994) Leaf rust-resistance genes Lr41, Lr42 and Lr43 transferred from *Triticum tauschii* to common wheat. *Crop Science* 34: 339-343.
- Damania AB, Pecetti L (1990) Variability in a collection of *Aegilops* species and evaluation for yellow rust resistance at two locations in Northern Syria. *Journal of Plant Breeding and Genetics* 44: 97-102.
- Damidoux R, Autran JC, Grignac P, Feillet P (1978) Mise en evidence de relations applicable en selection entre l'electrophoregrammes des gliadin et les proprietes viscoelastiques du gluten de *triticum durum* Desf. *Compt Renda Acad Science* 278: 7001-704.
- Dimov A, Zaharieva M, Mihova S (1993) Rust and powdery mildew resistance in *Aegilops* accessions from Bulgaria. In *biodiversity and wheat improvement. Evaluation and utilization of biodiversity in wild relatives and primitive forms for wheat improvement*, ICARDA, Aleppo, Syria, October 1992. Edited by Damania, A.B., John Wiley and Sons. New York pp. 165-169.
- Flate NES, Uhlen AK (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.
- Fullington JG, Cole EW, Kasarda D (1983) Quantitative SDS-PAGE of total proteins from different wheat varieties: Effect of protein context. *Cereal Chemistry* 60: 65-70.
- Georges-Louis F (1996) *Herbal blessings*. Chapter 2: The gluten proteins and deamidated soluble wheat protein (SWP). <http://www.friedli.com/research/PhD/gluten/chap2.html>
- Gianibelli MC, Larroque OR, Macritchie F, Wrigley CW (2001) Biochemical, genetic and molecular characterization of wheat endosperm protein. American Association of Cereal Chemists, Inc. Publication No. C-200-10629-00.
- Gill BS, Hatchett JH, Raupp WJ (1987) Chromosomal mapping of Hessian fly resistance gene H13 in the D genome of wheat. *Journal of Heredity* 78: 97-100.
- Gras PW, Anderssen RS, Keentock M, Bekes F, Appels R (2001) Gluten protein functionality in wheat flour processing: a review. *Australian Journal of Agricultural Research* 52: 1311-1323.
- Gregova E, Hermuth J, Kraic J, Dotlacil L (1970) Protein heterogeneity in European wheat landraces and obsolete cultivars. Additional information ii. Genetic Resources *Crop Evolution* 53: 867-871.
- Haider N, Nabulsi I, MirAli N (2010) Comparison of the efficiency of A-PAGE and SDS-PAGE, ISSRs and RAPDs in resolving genetic relationships among *Triticum* and *Aegilops* species. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57: 1023-1039.
- Hamer RJ, Weegels WP, Marseille JP (1992) Prediction of breadmaking quality of wheat: the use of HMW glutenin A subunit based quality scoring systems. *Journal of Cereal Science* 15: 91-102.
- Hassani ME, Shariflou MR, Gianibelli Mc, Sharp PJ (2006) Gli-DT1 and a novel γ -gliadin gene in *Aegilops tauschii*. *Plant Breeding* 125: 27-31.
- Jam Baranduzi A, Sofallian O, Asghari Zakaria R, Asghari A, Shokrpour M (2013) Assessment of genetic diversity in *Aegilops* species in North-West of Iran using ISSR marker. *Agricultural Science* 23: 66-75.
- Kolster P, Vaneuwijk FA, Vangelder WMJ (1991) Additive and epistatic effects of allelic variation of the HMW glutenin subunit loci in determining the bread-making quality of breeding lines of wheat. *Euphytica* 55: 277-285.
- Kozub NA, Sozinov IA, Sozinov AA (2012) Identification of Alleles at the Gliadin Loci GliU1 and GliM^b1 in *Aegilops biuncialis* Vis. *Genetics* 48: 473-479.
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the hard of the bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lagrain B, Brunnbauer M, Rombouts I, Koehler P (2013) Identification of Intact high molecular weight subunits from the wheat proteome using combined liquid

chromatography- electrospray lionization mass spectrometry. Plos One 8: 1-10.

Lawrence GJ, Shepherd KW (1981) Chromosomal location of genes controlling seed protein in species related to wheat. Theoretical and Applied Genetics 59:25-31.

Makkouk KM, Comeau A, Ghulam W (1994) Resistance to barley yellow dwarf luteovirus in *Aegilops* species. Canadian Journal of Plant Science 74: 631-634.

Metakovsky EV, Novoselskaya AYU (1991) Gliadin allele identification in common wheat I. Methodological aspects of the analysis of gliadin patterns by one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. Journal of Genetics and Plant Breeding 45: 317-324.

Metakovsky EV, Branlard G, Dhernakov VM, Upelnik VP, Redaelli R, pogna NE (1997) Recombination mapping of some chromosome 1A, 1B, 1D and 6B controlled gliadins and low-molecular-weight glutenin subunits in common wheat. Theoretical and Applied Genetics 94: 788-795.

MirAli N (2002a) Cluster analysis of Syrian grown bread wheat genotypes based on gliadins composition. Journal of Genetics and Plant Breeding 56: 177-183.

MirAli N (2002b) Gliadins composition and cluster analyses of Syrian grown durum wheat. Plant Breeding and Seed Science 46: 51-62.

Molnar I, Gaspar L, Sarvari E, Dulai S, Hoffmann B, Molnar-Lang M, Galiba G (2004) Physiological and morphological responses to water stress in *Aegilops biuncialis* and *Triticum aestivum* genotypes with differing tolerance to drought. Functional Plant Biology 31: 1149-1159.

Nei M (1978) Estimation of the average heterozygosity and genetics distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-590.

Nevo E, Payne PI (1987) Wheat storage proteins: diversity of HMW glutenin subunits in wild emmer from Israel. Theoretical and Applied Genetics 74: 827-36.

Payne PI (1987) Genetics of wheat storage protein and the effect of allelic variation on bread-making quality. Plant Physiology 38: 141-153.

Payne PI, Holt LM, Jackson EA, Law CN (1984) Wheat storage proteins: their genetics and potential for manipulation by plant breeding. Philosophical Transactions of the Royal Society 304: 359-371.

Pena RJ, Zarco-Hernandez J, Mujeeb-Kazi A (1995) Glutenin subunit compositions and bread-making quality characteristics of synthetic hexaploid wheats derived from *Triticum turgidum* × *Triticum tauschii* (Coss). Schmal crosses. Journal of Cereal Science 21:15-23.

Peskircioglu M, Ozgen M (1999) Identification of tetraploid *Aegilops* species from different altitudes of

Turkey by gliadin electrophoresis. Wheat Information Service 88: 15-20.

Pogna NE, Metakowsky EV, Redaelli R, Raineri F, Dachkevitch T (1993) Recombination mapping of Gli-5, a new gliadin-coding locus on chromosomes 1A and 1B in common wheat. Theoretical and Applied Genetics 87: 113-121.

Rashed MA, Abou-Deif MH, Sallam MAA, Aida Rizkalla A, Walaa Ramadan A (2007) Identification and prediction of the flour quality of bread wheat by gliadin electrophoresis. Journal of Applied Sciences Research 3: 1393-1399.

Raupp WJ, Amri A, Hatchett JH, Gill BS, Wilson DL, Cox TS (1993) Chromosomal location of Hessian fly-resistance genes H₂₂, H₂₃ and H₂₄ derived from *Triticum tauschii* in the D genome of wheat. Journal of Heredity 84: 142-145.

Rodriguez QM, Carrillo JM (1996) Linkage map of prolamin loci Gli-D4 and Gli-D5 in hexaploid wheat. Plant Breeding 115: 189-191.

Schneider A, Linc G, Molnar I, Molnar-Lang M (2005) Molecular cytogenetic characterization of *Aegilops biuncialis* and its use for the identification of five derived wheat/*Aegilops biuncialis* disomic addition lines. Genome 48: 1070-1082.

Shahbazi H (2000) Evaluating the bread making quality of wheat landraces of Iran using SDS-PAGE and A-PAGE. Thesis of MSc Faculty of Agriculture. University of Tabriz.

Shewry PR, Halford NG, La andra D (2003b) The genetics of wheat gluten proteins. In: Hall JC, Dunlap JC, Friedman T (eds) Advances in genetics, vol. 49. Academic. pp 111-184.

Singh NK, Shepherd KW (1984) Mapping of the genes controlling high molecular weight glutelin subunits of rye on the long arm of chromosome 1R. Genetical Research (Cambridge) 44: 117-123.

Singh NK, Shepherd KW (1988) Linkage mapping of the genes controlling endosperm proteins in wheat. 1- Genes on the short arms of group 1 chromosomes. Theoretical and Applied Genetics 66: 628-641.

Sofalian O, Valizadeh M (2009) Investigation of seed storage proteins in some wild wheat progenitors using SDS-PAGE and ACID-PAGE. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 37: 179-182.

Streyl L (2002) Biochemistry. Third edition. W. H. Freeman and company. New york.

Tan F, Zhou J, Yang Z, Zhang Y, Pan L, Ren ZH (2009) Characterization of a new synthetic wheat-*Aegilops biuncialis* partial amphiploid. African Journal of Biology 8: 3215-3218.

Van Slageren MW (1994) Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. and Spach) Eig

(Poaceae). Agricultural University Papers 94-7, Wageningen. International Center for Agricultural Research in Dry Areas, Aleppo, Syria. The Netherlands 1-513.

Wan Y, Yan Z, Liu K, Zheng Y, D'Ovidio R, Shewry PR, Halford NG, Wang D (2005) Comparative analysis of the D genome-encoded high-molecular weight subunits of

glutenin. Theoretical and Applied Genetics 111: 1183-1190.

Yan Z, Wan Y, Liu K, Zheng Y, Wang D (2002) Identification of a novel HMW glutenin subunit and comparison of its amino acid sequence with those of homologous subunits. Chinese Science Bulletin 47:220-225.