

بررسی تغییرات الگوی نواری زیرواحدهای گلوٲین با وزن مولکولی بالا با استفاده از ارقام گندم دارای جایگزینی های کروموزومی

عباسعلی امام جمعه*^۱، محمود سلوکی^۲

۱-۲- اعضای هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی

دانشگاه زابل

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:

(تاریخ دریافت: - تاریخ پذیرش:)

چکیده

بذر گندم شامل پروتئین های گلیادین و گلوٲین می باشد. گلوٲین ها شامل اجزاء با وزن مولکولی بالا است. در این پژوهش، پروتئین بذر ۲۷ لاین جایگزینی کروموزومی مربوط به ارقام کاپلا و شاین به همراه رقم کاپلا والد و نیز رقم چینی بهاره به عنوان شاهد استخراج شد. برای تفکیک زیرواحدهای گلوٲین، از روش SDS-PAGE استفاده شد. براساس رنگ آمیزی ژل با کوماسی بلو (۱۰ باند چندشکل)، دامنه ضرایب تشابه جاکارد بین لاین ها از ۰/۵۵ تا ۱ با میانگین ۰/۸۲ برآورد گردید. کمترین تشابه مربوط به شاین B۴ با کاپلا A۳ (یعنی ۰/۵۵) بود. همه لاین های جایگزینی کاپلا کاملاً مشابه با کاپلا والد بودند، اما ضریب تشابه کاپلا A۳ با کاپلا والدی برابر ۰/۷۳۶ بود. کاپلا A۳ با لاین های دیگر نیز دارای تشابه کمتری بود. براساس دندروگرام حاصل از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA، لاین های مورد مطالعه و شاهد به ۳ دسته تقسیم شدند که کاپلا A۳ و شاین B۴ هر کدام در یک دسته مجزا و بقیه در دسته دیگر قرار گرفتند. در رنگ آمیزی با نیتراٲ نقره (۸ باند چندشکل)، نیز دامنه ضریب تشابه جاکارد بین ۰/۷ تا ۱ با میانگین ۰/۷۹ بود. کمترین تشابه مربوط به کاپلا A۳ با کاپلا B۴ و شاین B۷ بود. براساس دندروگرام حاصل از این ضرایب، لاین های مورد مطالعه و شاهد به دو دسته تقسیم شدند که کاپلا A۳ در یک دسته مجزا قرار گرفت. دندروگرام رتبه دهی باندها، لاین ها و شاهد را به ۳ دسته تقسیم کرد که شاین A۷، شاین B۴ و کاپلا A۳ در یک گروه قرار گرفته بودند. به طور کلی در واریته کاپلا، کروموزوم جایگزین شده A۳ و در واریته شاین کروموزوم های A۷ و B۴ بیشترین تغییرات را در الگوی باندهای داشتند.

واژه های کلیدی

گندم،
جایگزینی کروموزومی،
زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا،
رنگ آمیزی کوماسی بلو،
نیتراٲ نقره

مقدمه

لاین‌های جایگزینی کروموزومی^۱ حاصل جایگزینی یک جفت کروموزوم همولوگ مربوط به یک واریته در واریته دیگر (بدون تغییر در تعداد کروموزوم) می‌باشند (۴)، به همین دلیل این لاین‌ها مشابه لاین‌های معمولی می‌باشند و در تولید آنها از آنیوپلوئیدها (منوزومیک‌ها) و روش تلاقی برگشتی استفاده می‌شود به نحویکه باید برای تولید هر لاین باید یک پروژنه چندساله تلاقی برگشتی انجام داد (۱۲).

لاین‌های مذکور بسیار مفید هستند، زیرا با استفاده از آنها می‌توان کلیه تفاوت‌های ژنتیکی موجود بین دو رقم را به کروموزوم‌های مربوطه نسبت داد. اگرچه زمان زیادی برای تولید لاین‌های جایگزینی کروموزومی صرف می‌شود ولی این لاین‌ها یکی از بهترین روش‌ها برای مطالعه صفات کمی در گندم می‌باشند (۴). از رگه‌های جایگزین بین واریته‌ای در تعیین محل کروموزومی ژن‌های مقاومت به تنش‌های محیطی استفاده زیادی شده است (۱۶).

آلل‌های مختلف هر ژن ممکن است پروتئین‌هایی با ترکیبات آمینو اسیدی و یا اندازه‌های مختلف تولید کنند که این پروتئین‌ها به راحتی از طریق الکتروفورز روی ژل از یکدیگر جدا شده و شناسایی می‌شوند و در نتیجه بعنوان نشانگر ژنتیکی قابل استفاده خواهند بود (۷ و ۱۲).

از آنجا که گندم یک گیاه پلی‌پلوئید است، سطوح آنیوپلوئیدی مختلف مثل منوزومیک، نولی زومیک و تری زومیک را تحمل می‌نمایند. بنابراین لاین‌های جایگزینی کروموزومی در ارقام مختلف گندم تولید شده است (۱۷).

هر رقم گندم دارای مجموعه منحصر به فردی از پلی‌پپتیدهای گلوتهین و گلیادین می‌باشد که مجموعاً گلوتهین را تشکیل می‌دهند. این پروتئین‌ها روی کیفیت خمیر تاثیر می‌گذارند، بنابراین شناسایی آلل‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای موثر بر روی خصوصیات خمیر برای بهبود ژنتیکی گندم ضروری است (۷ و ۵).

آلل‌های زیر واحدهای گلوتهین با وزن مولکولی بالا دارای درجات کیفیتی متفاوت می‌باشند و شناسایی زیرواحدهای

گلوتهین با وزن مولکولی بالا به طور وسیعی در به نژادی گندم می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از پروتئین‌های ذخیره‌ای در گروه بزرگی از مطالعات نظیر شناسایی واریته‌ها، ارزیابی روابط فیلوژنتیکی، تشابه‌های ژنومی و ساختار ژنتیکی مواد ژرم پلاسما به خوبی گزارش شده است. اولین آزمایش کروموزومی در گندم با استفاده از لاین‌های مربوط به واریته‌های جایگزینی تاجر و هوپ در رقم چینی بهاره انجام شد. در این آزمایش مشاهده گردید که لاین‌های جایگزینی شده در برخی صفات مثل عملکرد، وزن دانه و ارتفاع با رقم چینی بهاره تفاوت دارند (۱۱).

دشتی و همکاران (۱۳۷۷) با استفاده از سری لاین‌های جایگزینی متقابل بین دو واریته شاین و ویچیتا برای تشخیص محل کروموزومی ژن‌های موثر در زمان خوشه رفتن، نشان دادند که این ژن‌ها روی کروموزوم‌های 3A، 3D و ID ویچیتا و کروموزوم‌های 3A، 3D، 1D، 4D و 6A 1B شاین قرار دارند و در واریته ویچیتا موجب تسریع در خوشه دهی (زود رسی) و در شاین موجب تأخیر در خوشه دهی (دیر رسی) می‌شوند (۳).

برای مطالعه ارزش ناوایی توسط برخی محققین از یک سری لاین جایگزینی استفاده گردید که در آنها کروموزوم‌های مربوط به کیفیت ناوایی خوب بزوستایا در یک رقم گندم فاقد کیفیت ناوایی مناسب جانشین گردیده بود. نتایج نشان دهنده اثرات مثبت و فوق العاده معنی‌دار کروموزوم‌های 1A، ID و 6D بزوستایا بر روی حجم نان بود. لاین‌های جایگزینی مذکور با در اختیار داشتن آلل‌های مربوط به ذخیره پروتئین توجیه کننده ۷۵ درصد تفاوت در حجم نان دو رقم بودند (۵).

پاین و همکاران (۱۹۸۰) تحرک الکتروفورزی زیر واحدهای با وزن مولکولی بالای گلوتهین را در هفت واریته گندم نان به وسیله الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید در حضور سدیم دو سولفات (SDS-PAGE) مورد مقایسه قرار دادند. در کل ۱۲ زیرواحد به طور واضح مشاهده شد که دارای وزن مولکولی بین ۹۵ هزار تا ۱۴۰ هزار دالتون بودند. آنها محل کروموزومی ژن‌های سنتز کننده این زیر واحدها را بوسیله لاین‌های منوزومیک و لاین‌های جایگزین بین واریته‌ای مشخص کردند؛ همه زیرواحدها بوسیله گروه یک کروموزوم‌های همولوگ کنترل می‌شدند (۱۳).

¹ Chromosomal Substitution Lines

تجزیه داده‌های الکتروفورزی بر اساس ضریب تشابه جاکارد هر یک از نوارهای الکتروفورزی به عنوان یک صفت در نظر گرفته شد و به حضور و عدم حضور نوارها به ترتیب اعداد یک و صفر اختصاص داده شد. سپس با استفاده از نرم افزار 2.02 NTSYSpc ماتریس تشابه محاسبه و برای تجزیه خوشه‌ای از روش UPGMA استفاده گردید. وزن مولکولی هر یک از باندها نیز با استفاده از فرمول رگرسیون نیمه لگاریتمی برای بررسی تنوع لاین‌ها محاسبه گردید (۵).

نتایج

۲۲ باند با مهاجرت نسبی متفاوت در روش رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو تشخیص داده شد که از این تعداد ۱۰ عدد چندشکل بودند (شکل ۱). در این روش رنگ‌آمیزی، شاین 4B دارای کمترین تعداد باند (۱۷ باند)، کاپلا 3A دارای ۱۸ باند و مابقی لاین‌های مورد مطالعه ۱۹ باند داشتند. در روش رنگ‌آمیزی با نیترات نقره در کل ۲۰ باند با مهاجرت نسبی متفاوت تشخیص داده شد که از این تعداد ۸ عدد آنها چندشکل بودند. در این روش کاپلا 3D، کاپلا 4D و شاین 1B دارای بیشترین تعداد باند (۱۹ باند) و لاین‌های کاپلا 3A، 7A، 1B، 4B و شاین 7B، 4D کمترین تعداد باند (۱۷ باند) و مابقی لاین‌ها دارای ۱۸ باند بودند. برای اطلاع از وجود تفاوت‌های آماری در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ نسبت باند دهی (باندهای چندشکل) و همچنین وجود تفاوت آماری در بین دو روش رنگ‌آمیزی از نظر تعداد باندهای مشاهده شده، تجزیه کای اسکور بر روی داده‌های حاصل از آزمایش انجام گردید و نتایج بدست آمده وجود تفاوت معنی‌دار را بین ارقام از لحاظ باند دهی در سطح ۵٪ نشان داد. در روش رنگ‌آمیزی کوماسی بلو دامنه ضرایب تشابه جاکارد بین ۵۵٪ تا ۱ با میانگین ۰/۸۲ متغیر بود. کمترین ضریب تشابه ژنتیکی (۵۵٪) بین لاین‌های شاین 4B با کاپلا 3A و بالاترین ضریب تشابه (۱) بین تمامی لاین‌های جایگزینی کاپلا با کاپلا والد (شاهد) مشاهده شد و فقط ضریب تشابه کاپلا 3A با (شاهد) ۷۳۶٪ بود. به طور کلی کاپلا 3A با لاین‌های دیگر نیز از ضریب تشابه کمتری برخوردار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بحرایی و همکاران (۱۳۸۰) تنوع زیرواحدهای گلوٲنین‌های سنگین مربوط به مکان‌های ژنی Glu-1 را در ۲۳ لاین و رقم گندم‌های نان ایران با استفاده از روش SDS-PAGE مورد بررسی قرار دادند. در نهایت مجموعاً ۱۴ نوع آلل و ۲۱ ترکیب آلی در گندم‌های نان مورد مطالعه مشاهده شد (۲). هدف ما از این پژوهش، بررسی تاثیر هر کدام از کروموزوم‌های گندم نانویی در ارقام کاپلا و شاین بر روی الگوی پروتئینی زیرواحدهای گلوٲنین با وزن مولکولی بالا بود.

در این پژوهش ۲۷ لاین جایگزینی کروموزومی متقابل ارقام کاپلا و شاین به همراه رقم کاپلای والد و نیز رقم چینی بهاره به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). در این جدول عدد و حرف مقابل نام هر لاین، نشان‌دهنده شماره کروموزوم جایگزین شده و نام ژنومی که جابجایی در آن صورت گرفته است، می‌باشد؛ مثلاً لاین کاپلا 3A، یعنی رقم کاپلایی که کروموزوم 3A در آن جایگزین شده است. این لاین‌ها در یک انستیتوی تحقیقاتی در مجارستان تهیه گردیده‌اند. استخراج پروتئین با استفاده از روش لاملی و همکاران (۱۹۷۰) (۱۰) اصلاح شده توسط فولینگتون و همکاران (۲۰۰۶) صورت گرفت (۸) و سپس الکتروفورز ژل SDS-PAGE تک بعدی انجام گردید. ژل مورد استفاده دارای دو لایه یعنی لایه بالایی یا ژل متراکم کننده^۲ (۴٪) و لایه پایینی یا ژل تفکیک کننده^۳ (۱۰٪) بود. جریان را روی آمپراژ ثابت ۱۸ میلی آمپر تنظیم گردید و سپس ژل برای رنگ‌آمیزی آماده گردید؛ به منظور مقایسه نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی نیترات نقره و کوماسی بلو، این دو نوع رنگ‌آمیزی به صورت جداگانه انجام شد (۱۵). برای نامگذاری باندها از روش ارائه شده توسط پایین و مقایسه پروفیل نمونه‌ها با رقم استاندارد چینی بهاره و الگوی مربوطه استفاده شد؛ سپس برای امتیازبندی کیفیت، جدول امتیاز دهی پایین مورد استفاده قرار گرفت (۱۴).

² . Resolving gel

³ . Stacking gel

بود. در هر لاین ۲ تا ۴ زیر واحد مختلف وجود داشت. اکثر لاین‌ها دارای دو زیر واحد مختلف بودند به جز کاپلای 3A که ۴ زیر واحد داشت و شاین 7A و شاین 4B که دارای ۳ زیر واحد بودند (جدول ۴).

طبق جدول ۴ فقط کاپلا 3A دارای بیشترین زیرواحد یعنی ۴ عدد و همچنین دارای زیرواحد 2^x می‌باشد؛ درحالیکه بقیه لاین‌ها در مکان کروموزومی A زیرواحدهی ندارند و در واقع نول هستند؛ همچنین فقط کاپلا 3A دارای زیرواحد $2+12$ می‌باشد و سایر لاین‌ها به جای این زیرواحد، دارای زیرواحدهای $2+12$ و یا $3+12$ هستند. از آنجاییکه زیرواحدهای $2+12$ و $3+12$ اثر منفی در ارزش نانوایی دارند پس همه لاین‌ها و واریته شاهد مورد مطالعه دارای ارزش نانوایی بسیار کمی بودند و با توجه به اینکه زیرواحد 2^x اثر مثبت در کیفیت نانوایی دارد پس کاپلا 3A نسبت به بقیه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از ارزش نانوایی بهتری برخوردار بود.

در روش رنگ آمیزی نیتراٲ نقره دامنه ضریب تشابه بین ۰/۷ تا ۱ متغیر بود و کمترین ضریب تشابه مربوط به کاپلا 3A با کاپلا 4B و شاین 7B بود (شکل ۲).

ضریب همبستگی کوفتیک بر اساس ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA در روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو (۰/۹۹۲) و در روش رنگ آمیزی با نیتراٲ نقره (۰/۹۷۹) بود (جدول ۲ و ۳) که در هر دو روش رنگ آمیزی بالاترین ضریب کوفتیک به دست آمد. ضریب کوفتیک در هر دو روش رنگ آمیزی نشان دهنده کارایی مطلوب الگوریتم مورد استفاده است.

دندروگرام حاصل از روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو، لاین‌های مورد مطالعه و شاهد را به ۳ گروه (شکل ۳) و در روش رنگ آمیزی با نیتراٲ نقره به ۲ گروه تقسیم نمود (شکل ۴).

کلا ۷ زیر واحد مختلف HMW-GS بین لاین‌ها شناسایی شد که شامل زیرواحد 2^x در مکان ژنی Glu-A1 و $7+8$ و $7+9$ در مکان ژنی Glu-B1 و $10+12$ و $2+2$ و $3+12$ در مکان ژنی Glu-D1

جدول ۱- لاین‌های مورد استفاده در تحقیق

رقم	ژنوتیپ	رقم	ژنوتیپ
۱	کاپلا 1A	۱۶	کاپلا 6D
۲	کاپلا 3A	۱۷	کاپلا 7D
۳	کاپلا 4A	۱۸	کاپلا والد
۴	کاپلا 5A	۱۹	چینی بهاره
۵	کاپلا 6B	۲۰	شاین 1B
۶	کاپلا 7A	۲۱	شاین 7B
۷	کاپلا 1B	۲۲	شاین 2B
۸	کاپلا 3B	۲۳	شاین 5B
۹	کاپلا 4B	۲۴	شاین 7A
۱۰	کاپلا 5B	۲۵	شاین 4D
۱۱	کاپلا 7B	۲۶	شاین 3A
۱۲	کاپلا 2D	۲۷	شاین 4B
۱۳	کاپلا 3D	۲۸	شاین 6A
۱۴	کاپلا 4D	۲۹	شاین 3D
۱۵	کاپلا 5D		

جدول ۲- مقدار ضریب همبستگی کوفتیک (r) بدست آمده برای الگوریتم‌های مورد نظر در رنگ آمیزی کوماسی بلو

الگوریتم/ ضریب تشابه	UPGMA	SINGLE	WPGMA
J	۰/۹۹۲	۰/۹۸۶	۰/۹۸۳
DIC	۰/۹۸۸	۰/۹۸۲	۰/۹۷۶
SM	۰/۹۹۰	۰/۹۸۲	۰/۹۷۹

جدول ۳- مقدار ضریب همبستگی کوفتیک (r) بدست آمده برای الگوریتم‌های مورد نظر در رنگ آمیزی نیتراٲ نقره

الگوریتم/ ضریب تشابه	UPGMA	SINGLE	WPGMA
J	۰/۹۶۶	۰/۹۷۶	۰/۹۷۹
DIC	۰/۹۶۷	۰/۹۷۵	۰/۹۷۸
SM	۰/۹۵۸	۰/۹۷۷	۰/۹۷۸

یکسان بودن زیرواحدهای HMW-GS کاپلا والد و دیگر لاین‌های جایگزین شده این وارسته (به استثناء کاپلا 3A) با رقم شاهد بود.

در این تحقیق امتیازات ارزش نانوی بر اساس روش پایین و همکاران (۱۹۸۳) در لاین‌های مورد مطالعه تعیین گردید (۱۴)، که فقط کاپلا 3A از نظر ارزش نانوی تقریباً جزء ارقام قوی به حساب می‌آید و لاین‌های دیگر و همچنین شاهد به استثنای شاین 7A و شاین 4B (به دلیل داشتن امتیاز ۸) جزء ارقام ضعیف محسوب می‌شوند (دارای امتیاز ۶-۴).

بحث

پایین و همکاران (۱۹۸۳) با مطالعه ۱۸۵ وارسته گندم توسط SDS-PAGE موفق به شناسایی ۲۰ زیرواحد مختلف شدند به طوری که هر وارسته بین ۳ تا ۵ زیر واحد داشت. ما تعداد این زیرواحدها را در هر لاین برابر ۲ تا ۴ برآورد نمودیم. می‌توان گفت که ما تعداد این زیرواحدها را بعلت کوچکتر بودن اندازه نمونه، کمتر برآورد نموده‌ایم. آنها با استفاده از لاین‌های جایگزینی کروموزومی نشان دادند که زیرواحدهای مربوط به کروموزوم‌های گروه B بیشترین تنوع را دارد. در کل ۷ زیرواحد HMW-GS بین لاین‌ها شناسایی شد که هر لاین دارای ۲ تا ۴ زیرواحد مختلف بود (۱۴).

مقایسه زیرواحدهای موجود در کاپلا والد با زیرواحدهای لاین‌های جایگزینی این وارسته نشان می‌دهد که زیرواحدهای مربوط به کاپلا 3A با بقیه متفاوت می‌باشد. کاپلا 3A دارای زیرواحدهای ۲⁺۱۰ و ۷+۹ است در حالی که بقیه لاین‌های جایگزینی کاپلا و کاپلا والد زیر واحدهای مذکور را ندارد (جدول ۴). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که جایجایی کروموزوم 3A در کاپلا مسئول این تغییرات است و نیز به استثناء کروموزوم 3A، جابه جایی کروموزوم‌های دیگر در کاپلا باعث تغییر در آن نشده است. در وارسته شاین نیز مقایسه زیرواحدهای HMW-GS نشان می‌دهد که شاین 7A و شاین 4B دارای زیرواحدهای ۷+۹ و ۳+۱۲ هستند در حالی که دیگر لاین‌های جایگزین شده وارسته مذکور این زیرواحدها را ندارند. همچنین شاین 7B و شاین 4D دارای زیرواحد ۷ هستند؛ ولی دیگر لاین‌های جایگزین شده شاین این زیرواحد را ندارند. پس به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که جابه جایی کروموزوم‌های 7B و 4D باعث بوجود آمدن این زیرواحد (۷) شده‌اند و نیز جابه جایی کروموزوم‌های 7A و 4B دارای اثر مشترک (یعنی زیرواحدهای ۷+۹ و ۳+۱۲) هستند. زیرواحدهای HMW-GS همه لاین‌های جایگزین شده مورد مطالعه با کاپلا والد و رقم شاهد مقایسه شدند. نتیجه حاکی از

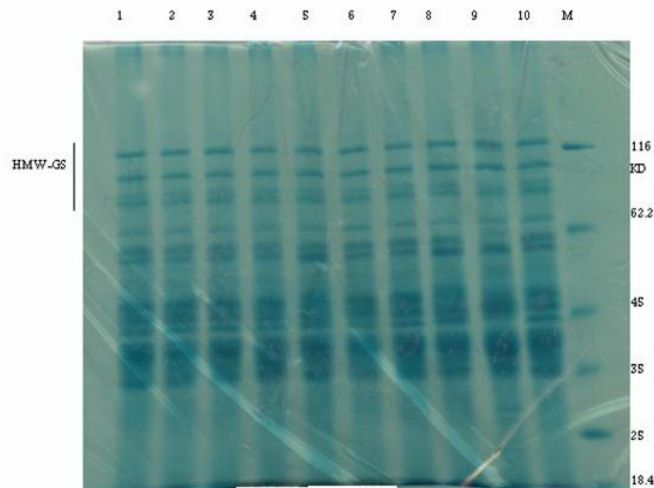
پاین و همکاران (۱۹۸۳) با مطالعه ساختار ژنتیکی زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی بالا در لاین‌های جایگزینی بین وارپته‌ای گندم نشان دادند که همه وارپته‌های هگزاپلوئید به جز وارپته 1D بنهال دارای ۲ زیرواحد اصلی موجود بر روی کروموزوم 1D بودند. این ژن‌ها از نظر ژنتیکی به شدت به هم پیوسته هستند به طوری‌که تنها ۴ نوع الگوی بانندی مشاهده شد (۱۳). آنها همچنین ژن‌های کنترل کننده گلوٲن را به گروه کروموزوم‌های همولوگ ۱ و ۶ محدود نمودند (۱۳).

زمترا و موریس (۱۹۸۸) با استفاده از مطالعه جایگزینی کروموزوم 3B وارپته شاین (دارای عادت رشد زمستانه) با همین کروموزوم در وارپته ویچیتا نشان دادند که تفاوت بین ویچیتا و شاین در عادت رشد زمستانه مربوط به کروموزوم 3B می‌باشد (۱۷).

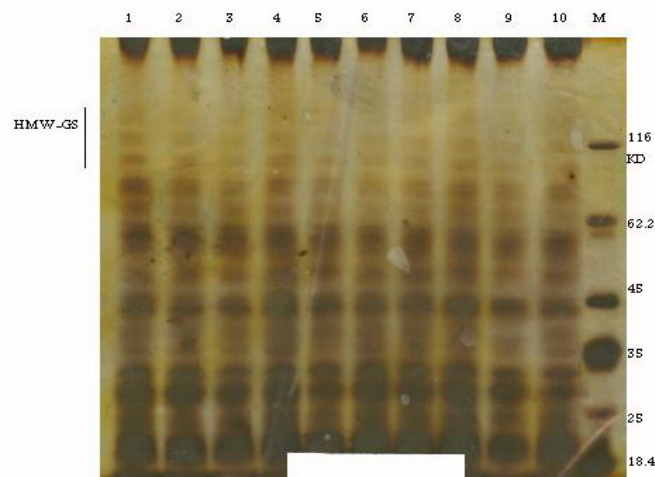
هین و همکاران (۱۹۹۴) با به کارگیری یک سری لاین جایگزینی کروموزومی از گندم شاین در رقم چینی بهاره مشخص کردند که کروموزوم‌های 1A، 1B، 1D و 7B بر کیفیت پخت اثر می‌گذارند. نتایج حاصل از مقایسه ارزش نانوایی لاین‌های مورد مطالعه نشان داد که فقط کروموزوم‌های 3A، 7A و 4B نقش مهمی در افزایش کیفیت نانوایی دارند (۹). این نتایج در تطابق کامل با نتایج ما در این پژوهش بود، چراکه ما نیز دریافتیم کروموزوم‌های 3A، 7A و 4B بر روی کیفیت نانوایی گندم اثر مثبتی را دارا می‌باشند که این امر به نوبه خود حاکی از وجود ژن‌های موثر در کیفیت نانوایی بر روی این کروموزوم‌هاست که طبعاً انتقال آنها می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

جدول ۴- امتیاز دهی پایین برای زیرواحدهای HMW-GS در توده‌های مورد بررسی

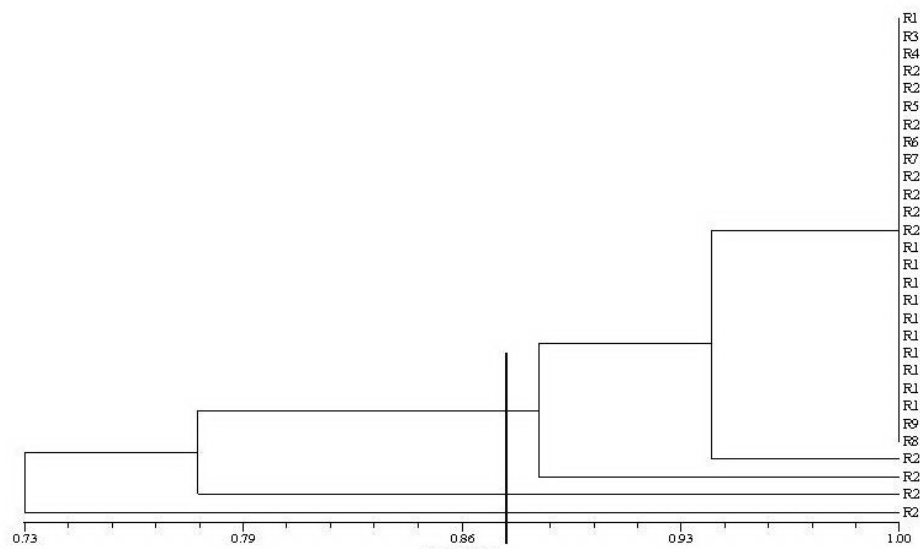
لاین	زیر واحد	امتیاز	لاین	زیر واحد	امتیاز
کاپلا 1A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	کاپلا 6D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 3A	۲* ، ۷+۸ ، ۲+۱۰ ، ۲+۱۲	۹	کاپلا 7D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 4A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	کاپلا والد	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 5A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	چینی بهاره	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 6B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 1B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 7A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 7B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۴
کاپلا 1B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 2B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 3B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 5B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 4B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 7A	Null ، ۷+۸ ، ۷+۹ ، ۳+۱۲	۸
کاپلا 5B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 4D	Null ، ۷ ، ۲+۱۲	۴
کاپلا 7B	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 3A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 2D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 4B	Null ، ۷+۸ ، ۷+۹ ، ۳+۱۲	۸
کاپلا 3D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 6A	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 4D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶	شاین 3D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶
کاپلا 5D	Null ، ۷+۸ ، ۲+۱۲	۶			



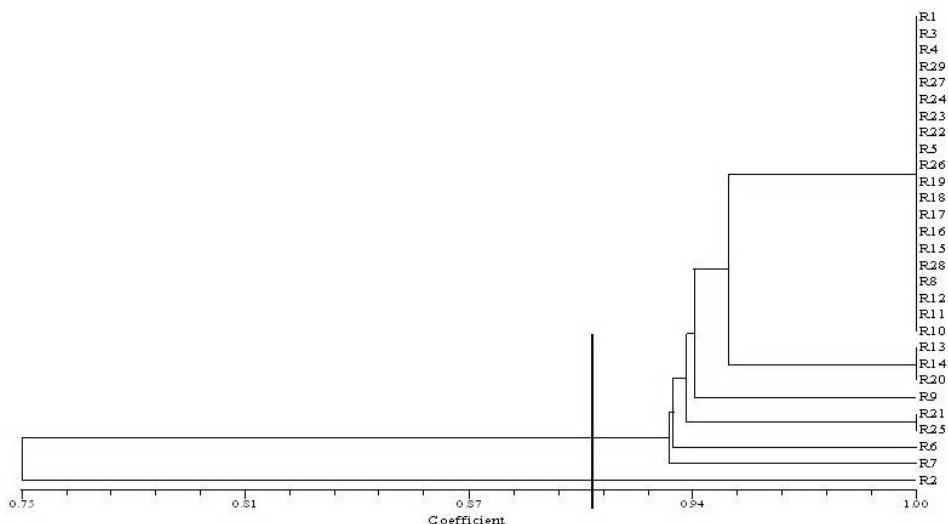
شکل ۱- نمونه‌ای از الگوهای باندهای تولید شده با روش SDS-PAGE در روش رنگ آمیزی با کوماسی بلو (M مارکر مولکولی وزنی است)



شکل ۲- نمونه‌ای از الگوهای باندهای تولید شده با روش SDS-PAGE در روش رنگ آمیزی نیترا ت نقره (M مارکر مولکولی وزنی است)



شکل ۳- دندروگرام حاصل از روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد در روش کوماسی بلو



شکل ۴- دندروگرام حاصل از روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد در روش نیترات نقره

سپاسگزاری

بدینوسیله مراتب سپاس خود را از تلاش‌های آقای زین العابدین موسوی و همچنین خانم‌ها سمیه منتظری‌نژاد و زهرا طاهرنژاد (دانشجویان سابق گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل) اعلام می‌داریم.

منابع

- ۱- ارزانی ا (۱۳۸۰) اصلاح گیاهان زراعی، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.
- ۲- بحرایی ص (۱۳۸۰) زیر واحد‌های گلوٹنین سنگین در گندم‌های نان تحت کشت ایران، دومین همایش بیوتکنولوژی ایران- کرج.
- ۳- دشتی ح، یزدی صمدی ب، و صرافی ا (۱۳۷۷) تعیین کروموزوم‌های حامل ژن‌های کنترل‌کننده تاریخ‌خوشه‌دهی با استفاده از رگه‌های جایگزینی کروموزومی متقابل در گندم زمستانه، مجله علوم کشاورزی ایران، ج ۶۹، ش ۳: ۴۸۱-۴۷۷.
- ۴- عبد میثانی س، و شاه نجات بوشهری ع (۱۳۷۷) اصلاح نبات تکمیلی، جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران.
- ۵- نورار (۱۳۸۳) بررسی تنوع ژنتیکی گندم‌های وحشی *Aegilops tiuncialis* ایران با استفاده از تکنیک

دنگ و همکاران (۲۰۰۵) با مطالعه HMW-GS لاین‌های تقریباً ایزوژنیک (Near Isogenic lines) به وسیله SDS-PAGE، اختلاف معنی‌داری در ترکیبات پروتئین دانه در میان لاین‌های تقریباً ایزوژن را نیافتند؛ آنها همچنین تأثیر زیر واحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا را بر روی کیفیت پخت نان در لاین‌های پیشرفته گندم چینی بهاره بررسی کردند (۶).

باید به این نکته اشاره نمود که این برای اولین بار بود که پژوهش با استفاده از این لاین‌ها بر روی کیفیت نانویی گندم انجام گرفت و این لاین‌ها پیش از این برای بررسی محل کروموزومی ژن‌های مقاومت به سرما و خشکی در گندم استفاده شده بودند.

در پایان به سایر پژوهشگران پیشنهاد می‌گردد که از تکنیک‌های مناسبی مانند پروتئومیکس برای بررسی سایر اجزای پروتئینی مؤثر در کیفیت نانویی گندم و از نشانگر مولکولی STS برای تعیین دقیق محل کروموزومی آلل‌های مؤثر در کیفیت نانویی استفاده کنند. همچنین با موتاسیون‌زایی، در جهت بهبود آلل‌های نامطلوب موجود بر روی کروموزوم‌های 7B و 4D تلاش شود و روش‌های کلاسیک و مدرن نیز برای انتقال آلل‌های مطلوب موجود بر روی کروموزوم‌های 3A، 7A و 4D بکار گرفته شود. شناسایی^۴ SNPs مؤثر بر کیفیت نانویی با روش‌های نوین نیز می‌تواند راهگشای آینده در این زمینه باشد.

⁴. Single nucleotide polymorphisms

الکتروفورز پروتئین های ذخیره ای دانه، پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نبات، دانشگاه تهران.

6. Deng Z Y and Tian J C, Sun GX (2005) Influence of high molecular weight glutenin subunit substitution on rheological behaviour and bread baking quality of near-isogenic lines developed from Chinese wheats. *Plant breeding*, 124(5): 428-431
7. Flacte M E and Uhlen A (2003) Association between allelic variational combined Gli -1, Glu - 1 loci and protein quality common wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Cereal science*, 37: 129-137
8. Fulington J G and Cole E W, Kasarda D D (2006) Quantitative SDS-PAGE of total proteins from different wheat varieties. *Journal of the science of food and agriculture*, 31(1): 43-53
9. Hyne V and Kearsey M J, Martinez O, Gang W, Snape JW (1994) A partial genome assay for quantitative trait loci in wheat (*Triticum aestivum*) using different analytical techniques. *Theoretical and applied genetics*, 89(6):735-741
10. Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature (Landon)*, 227:680-685.
11. Lufiudra D and Benedetelli S (1985) Seed storage protein and wheat genetics one and two – bimensional (two – PH) polyacrylamide Gel Electropgoresis in a single Gel: separation of wheat protein. *Cereal chemistry Journal*, 62: 314 – 319
12. Lupton F G H (1988) *Wheat breeding: Its scientific basis*. Chapman & Hall, London, 566pp
13. Payne P I and Low C I, Mudd E E (1980) Control by homoelogenous group 1 chromosomes of the high – molecular – weight subunit of glutenin a major protein of wheat endosperm. *Theoretical and applied genetics*, 58:113-120
14. Payne P I and Lawrence G j (1983) Catalogue of alleles for the complex genoloci, GluA1, GluB1, GluD1, Which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal research community*, 11: 29-35
15. Sambrook J and E F Fritsch, Maniatis T (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold spring harbor laboratory press, New York
16. Snap J W and Low C W (1985) Genetical analysis of chromosome 5A of wheat and its influence on important agronomic characters. *Theoretical and applied genetics*, 71(3):518-520
17. Zemetra R S and Morris R (1988) Effects of an intercultivaral chromosome substitution on winter hardiness and vernalization in wheat. *Genetics*. 119(2): 453 – 456

