علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۵، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۳ (ص ۳۳۴-۳۲۷)

شناسایی آلل‌های زیرواحدهای سبک گلوتنین در ژنوم D گندم نان و خویشاوندان وحشی

سیوان احمدی[۱]، محمدرضا نقوی[۲*] و علی‌اکبر شاه‌نجات بوشهری[۳]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادان، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۵/۱۶)

چکیده

در این پژوهش به‌منظور شناسایی زیرواحدهای سبک گلوتنین (LMW-GS) از ژنوم D، ۱۱۰ نمونه از گونه‌های گیاهی گندم نان، *Aegilops crassa* ، *Ae. cylindrica* و *Ae. tauschii* ارزیابی شد. در مجموع با توجه به نتایج آنالیز ژل‌های SDS-PAGE چهار آلل شناسایی شد. آلل a با فراوانی ۴۵ درصد دارای بیشترین فراوانی و پس از آن آلل‌های b، c و d به‌ترتیب دارای فراوانی‌های ۳۸/۱ ، ۱۱/۸ و ۹/۱ درصد بودند. در گونهٔ *Ae. crassa*، آلل‌های b و c به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین فراوانی‌اند. آلل‌های a و (c و d) به‌ترتیب در *Ae. cylindrica* بیشترین و کمترین فراوانی را دارند. در *Ae. tauschii* ، آلل‌های a و d به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین فراوانی‌اند. در *T. aestivum* ، آلل‌های b و d به‌ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را دارند. تنوع ژنتیکی (ζ) در جمعیت‌های گندم نان، *Ae. crassa*، *Ae. cylindrica* و *Ae. tauschii* به‌ترتیب ۰/۶۵۶۴، ۰/۵۷۹۲، ۰/۶۳۷۸ و ۰/۶۲۱۴ برآورد شد. همچنین تنوع ژنتیکی متوسط (H) برای کل جمعیت ۰/۶۲۹۴ به‌دست آمد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که خویشاوندان وحشی گندم دارای آلل‌های متنوعی‌اند که از این آلل‌ها می‌توان در برنامه‌های اصلاحی به‌منظور بهبود گلوتنین استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: زیرواحدهای سبک گلوتنین، ژنوم D، SDS-PAGE.

مقدمه

۹۵ درصد گندم تولیدی جهان مربوط به گونهٔ *Triticum aestivum* L. (2n=6x=42, AABBDD) است (Peng *et al.*, 2011). گلوتنین‌ها یکی از انواع پروتئین‌های شرکت‌کنندهٔ موجود در آندوسپرم دانه‌اند که از دو زیرواحد سبک[۱] و سنگین[۲] تشکیل شده است. با توجه به اینکه زیرواحدهای سبک ۳۰ درصد از کل پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه و در حدود ۶۰ درصد از کل گلوتنین را به خود اختصاص داده‌اند، دارای آثار بسیار مشهودی بر گسترش[۳] و حداکثر مقاومت[۴] خمیرند (D'Ovidio & Masci, 2004). گلیادین، دومین پروتئین گلوتن است که از زیرواحدهای منفرد تشکیل شده است (Payne, 1987). زیرواحدهای سبک و سنگین گلوتنین به‌ترتیب به‌وسیلهٔ مکان‌های ژنی روی بازوی کوتاه و بلند، سری اول کروموزوم‌های همیولوگ رمز می‌شوند و این مکان‌ها را با *Glu-A3*، *Glu-B3* و *Glu-D3* برای زیرواحدهای سبک و *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* برای زیرواحدهای سنگین نشان می‌دهند (Singh &

1. Low-Molecular-Weight Glutenin Subunit (LMW-GS)
2. High-Molecular-Weight Glutenin Subunit (HMW-GS)
3. Extensibility
4. Maximum Resistance

* تلفن: ۰۹۱۲۳۱۳۰۳۶۰
E-mail: mnaghavi@ut.ac.ir

(Shepherd, 1988a, b). برپایهٔ اسیدآمینهٔ ابتدایی سرین، متیونین و ایزولوسین از پایانهٔ N، زیرواحدهای سبک به‌ترتیب به سه دستهٔ LMW-s، LMW-m و LMW-i طبقه‌بندی می‌شوند (D'Ovidio & Masci, 2004)؛ همچنین براساس سیالیت آنها در ژل SDS-PAGE به سه دستهٔ B، C و D تفکیک می‌شوند و زیرواحدهای نوع B فراوان‌ترین‌اند که جابه‌جایی کمتری در ژل دارند (Jackson *et al.*, 1983). LMW-GSها گروه پیچیده‌ای از پروتئین‌ها هستند که قابلیت تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی بین‌مولکولی آنها موجب شرکت آنها در پلی‌مر پروتئینی گلوتن می‌شود. توانایی آنها در تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی درون‌مولکولی با یکدیگر یا با مولکول‌های زیرواحدهای سنگین به‌منظور شکل‌گیری پلی‌مرهای گلوتنین بسیار مهم است و ویژگی‌های فراوری خمیر آرد گندم را رقم می‌زند. اکثر زیرواحدهای سبک دارای هشت اسیدآمینهٔ سیستئین در زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی هستند (D'Ovidio & Masci, 2004). اولین سیستئین LMW-s و LMW-m در پایانهٔ N یا در ناحیهٔ تکرارشونده قرار دارد. در حالی که LMW-i همهٔ سیستئین‌ها را فقط در پایانهٔ C دارند (D'Ovidio & Masci, 2004). تعداد نسخه‌های ژن‌های رمزکنندهٔ زیرواحدهای سبک گلوتنین در گندم براساس آنالیز ساترن بلاتینگ ۳۰-۴۰ است (Cassidy *et al.*, 1998).

گندم امروزی از تلاقی *T. turgidum* و *Ae. tauschii* پدید آمده است (McFadden & Sears, 1946). کیفیت نان صفتی کمّی است که زیرواحدهای سبک اهمیت بسیار زیادی در این زمینه دارند (Gupta *et al.*, 1993). ژنوم D مهم‌ترین ژنوم گندم است که تنوع زیادی برای تعیین کیفیت دارد. همهٔ نمونه‌های بررسی‌شده در این تحقیق از گونه‌های مختلف دارندهٔ آن هستند. برپایهٔ مدارک ژنتیکی *Ae. tauschii* دهندهٔ ژنوم D به گندم است و به‌آسانی می‌تواند با گندم‌های تتراپلوئید هیبرید شود (Dvorak *et al.*, 1998). این تحقیق با هدف بررسی کیفیت بر روی LMW (دارای ساختارها و پلی‌پپتیدهای فراوان‌اند) و مطالعه کمتری نسبت به HMW (دارای اجزای کمتری هستند) صورت گرفته است و همچنین به‌دلیل اهمیت ژنوم D، تلاش‌هایی برای معرفی ژن‌های ارزشمند از خزانهٔ ژنی خویشاوندان وحشی صورت گرفته است. براساس اهمیت این ژنوم، بذرهای سایر گونه‌های گیاهی دارندهٔ آن جمع‌آوری شد تا بتوان با بررسی و آنالیز پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه، آلل‌های موجود را در این خزانه ژنی شناسایی کرد. در نهایت نتایج این پژوهش ممکن است در انتخاب نمونه‌های مطلوب ارقام مورد بررسی از نظر زیرواحدهای LMW گلوتنین به‌منظور تلاقی با گندم یا تهیهٔ گندم‌های هگزاپلوئید مصنوعی نیز مفید واقع شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی بررسی‌شده در این پژوهش همگی از بانک ژن مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر کرج تهیه شد که شامل ۲۵ نمونه *Aegilops crassa* (2n=4x=28, DDMM)، ۲۷ نمونه *Ae. cylindrica* (2n=4x=28, CCDD)، ۲۸ نمونه *Ae. tauschii* و ۳۰ نمونه گندم نان بود که از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری شده‌اند.

برای استخراج زیرواحدهای سبک گلوتنین از نصف آندوسپرم دانه از روش Singh *et al.* (1991) استفاده شد. در این روش، ابتدا گلیادین‌ها با کمک اتانول و پروپانول نرمال حذف شدند و در ادامه، با استفاده از دی‌تیوتریتول و ۴-وینیل‌پریدین به‌ترتیب پیوند دی‌سولفیدی بین گلوتنین‌ها شکسته و احیا شد. برای جداسازی گلوتنین‌ها از روش SDS-PAGE معرفی‌شده توسط Laemmli (1970)، ژل اکریل‌آمید ناپیوستهٔ ۶ و ۱۲ درصد و جریان ۲۵ میلی‌آمپر به‌مدت هشت ساعت استفاده شد. برای تشخیص زیرواحدهای سبک گلوتنین از رقم Chinese Spring و چهار رقم Cook، Grebe، Sunelg و Sunstar از کشور استرالیا استفاده شد (جدول ۱). شناسایی این زیرواحدها با استفاده از روش‌های پیشنهادی Gupta & Shepherd (1990) و Liu *et al.* (2010) صورت گرفت.

به‌منظور محاسبهٔ تنوع ژنتیکی در مکان ژنی *Glu-D3* از شاخص Nei (1973) استفاده شد. در این فرمول، اگر *Pi* فراوانی نسبی آلل *i*ام در یک مکان ژنی در جمعیت مورد بررسی باشد، تنوع ژنتیکی در این مکان ژنی برابر است با:

$$\zeta = ۱ - \sum \mathrm{Pi}^{۲} \qquad (۱)$$

برای محاسبهٔ تنوع ژنتیکی متوسط (H) به‌صورت

میانگین H_jها در تمام مکان‌های ژنی از فرمول پیشنهادی Nei (1973) به‌صورت زیر استفاده می‌شود:

$$H = \frac{N}{N-1} \times \frac{\sum_j (1 - \sum_i P_{ij}^2)}{N_J} \quad (۲)$$

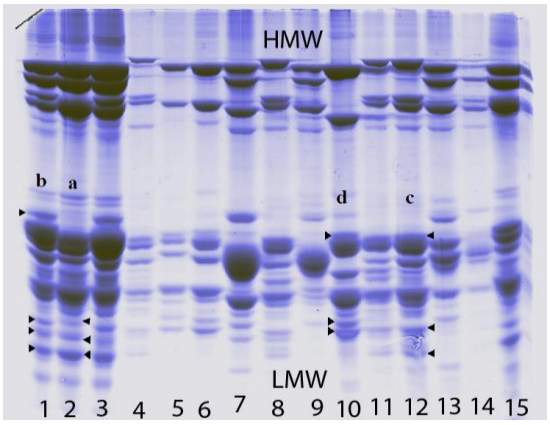
در این فرمول، N: تعداد واریته یا نمونه؛ P^2_{ij}: فراوانی نسبی آلل iام از مکان ژنی jام؛ و N_j: تعداد مکان‌های ژنی است.

جدول ۱. مشخصات کامل شاهدهای پروتئینی استفاده‌شده برای شناسایی آلل‌های زیرواحدهای سبک گلوتنین موجود در کروموزوم 1D

نام رقم	منشأ	*Glu-A1*	*Glu-B1*	*Glu-D1*	LMW-GS (*Glu-A3*)	LMW-GS (*Glu-B3*)	LMW-GS (*Glu-D3*)
Chinese Spring	چین	Null	7+8	2+12	a	a	a
Cook	استرالیا	1	7+8/7*+8	2+12	b	b	b
Grebe	استرالیا	Null	7+9	5+10	c	j	a
Sunelg	استرالیا	2*	17+18	2+12	c	b	b
Sunstar	استرالیا	2*/1	7+8/7*+8	2+12/5+10	c	b	b

نتایج و بحث

بر اساس الگوی نواری نمونه گندم‌های شاهد در تجزیهٔ ژل‌های SDS-PAGE چهار آلل a، b، c و d از ژنوم D این گونه‌ها شناسایی شد؛ به‌طوری که در گندم نان و همچنین در *Ae. crassa* آلل b دارای بیشترین فراوانی بود، در حالی‌که آلل a برای دو گونهٔ *Ae. tauschii* و *Ae. cylindrical* دارای فراوانی زیادی بود (جدول ۲). همچنین با در نظر گرفتن چهار گونه، فراوانی آلل‌های a، b، c و d به‌ترتیب برابر ۴۱، ۳۸/۱، ۱۱/۸و ۹/۱ درصد مشاهده شد. در حقیقت نتایج حاصل از این جدول نشان می‌دهد که بیشترین فراوانی مربوط به آلل a است و در میان گونه‌های مورد بررسی *Ae. tauschii* دارای بیشترین فراوانی است که ۳۳/۳۳ درصد از فراوانی آلل a مربوط به این گونه است. برای آلل b بیشترین فراوانی که ۳۵/۷ درصد است، مربوط به ژنوم *Ae. crassa* است. نمونه‌ای از ژل‌های بارگذاری‌شده را در شکل ۱ می‌توان دید. در ضمن آلل‌های شناسایی‌شده در کل گیاهان مورد بررسی در جدول‌های ۳ تا ۶ آمده است.



شکل ۱. نمونه‌ای از ژل‌های SDS-PAGE بارگذاری‌شده برای زیرواحدهای مختلف گلوتنین

به‌ترتیب از چپ به راست: ۱. Cook، ۲. Grebe، ۳. Sunstar، ۴. TN2544 (*Ae. cylindrica* از استان زنجان)، ۵. TN2505 (*Ae. tauschii* از استان سمنان)، ۶. TN2223 (*Ae. tauschii* از استان آذربایجان شرقی)، ۷. TN1522 (*Ae. crassa* از استان کرمانشاه)، ۸. TN1325 (*Ae. cylindrica* از استان همدان)، ۹. TN0744 (*Ae. crassa* از استان فارس)، ۱۰. TN0698 (*Ae. tauschii* از استان مازندران)، ۱۱. TN0383 (*Ae. cylindrica* از استان همدان)، ۱۲. TN0351 (*Ae. cylindrica* از استان مرکزی)، ۱۳. TN0310 (*Ae. crassa* از استان آذربایجان غربی)، ۱۴. 50092 (*Ae. crassa* از استان آذربایجان شرقی) و ۱۵. Grebe.

جدول ۲. تعداد و فراوانی آلل‌های زیرواحدهای سبک گلوتنین شناسایی‌شده در ژنوم D

گونه	a	b	c	d
Triticum aestivum	۱۱	۱۳	۴	۲
Aegilops crassa	۵	۱۵	۲	۳
Aegilops cylindrica	۱۴	۷	۳	۳
Aegilops tauschii	۱۵	۷	۴	۲
فراوانی (درصد)	۴۱	۳۸/۱	۱۱/۸	۹/۱

این میزان آلل شناسایی‌شده نسبت به آلل‌های شناسایی‌شدهٔ قبلی که در در گندم‌های زراعی گزارش شده بود، بیشتر است. به‌طوری که Ikeda *et al.* (2008)، Isadi Darbandi (2008) و Dubcovsky *et al.* (1997) به‌ترتیب نه، پنج و پنج آلل را در سطح پروتئین برای زیرواحدهای سبک گلوتنین در ژنوم‌های مختلف گندم شناسایی کردند. این تفاوت ممکن است به‌دلیل وجود آلل‌های گوناگون در خویشاوندان وحشی گندم باشد. بنابراین با شناسایی این نوع آلل‌ها، از آنها می‌توان در

بهبود ارزش پروتئینی گندم نان استفاده کرد. جدول‌های ۳ تا ۶ وضعیت آلل‌ها را در مناطق جغرافیایی مختلف نشان می‌دهد. آلل c در *Ae. crassa* فقط در دو نمونهٔ استان فارس، و آلل d در دو نمونه، استان ایلام و یک نمونهٔ استان خراسان دیده می‌شود؛ درحالی‌که آلل b پراکنش خوبی را در اکثر استان‌ها نشان می‌دهد (جدول۳). ولی باز آلل‌های c و d به‌ترتیب در سه استان (تهران، مرکزی و آذربایجان غربی) و دو استان (سمنان و خراسان) دیده می‌شوند (جدول ۴). در *Ae. tauschii* پراکنش مناسبی از آلل a و در حد کمتر برای آلل b در استان‌های کشور مشاهده شد؛ درحالی‌که آلل‌های c و d به‌ترتیب در چهار و دو استان مشاهده شد (جدول ۵). برای گندم نان نیز پراکنش دو آلل a و b زیاد بود، ولی پراکنش دو آلل c و d به‌ترتیب محدود به چهار و دو استان بود (جدول ۶).

اطلاعات این جدول‌ها نشان می‌دهند که ارتباطی بین تنوع جغرافیایی و تنوع آللی وجود ندارد. تحقیقات قبلی دربارهٔ گندم‌های نان و خویشاوندان وحشی آنها براساس زیرواحدهای سبک و سنگین و همچنین براساس نشانگرهای مولکولی DNA (Bamneshin *et al*., 2009; Naghavi *et al*., 2009; Hoseinian Khoshru *et al*., 2010) نشان داد که ارتباطی بین تنوع جغرافیایی و تنوع مولکولی وجود ندارد که دلیل آن ممکن است جابه‌جایی ژرم‌پلاسم‌ها از یک منطقه به منطقهٔ دیگر یا کم بودن تعداد نمونهٔ مورد بررسی از هر منطقه باشد.

جدول ۳. باندهای شناسایی‌شدهٔ زیرواحدهای سبک گلوتنین در ژنوم D در گونهٔ *Aegilops crassa*

گونه	نمونه	منشأ	a	b	c	d
Ae. crassa	TN2203	زنجان	*			
Ae. crassa	TN2183	زنجان		*		
Ae. crassa	TN2113	کردستان		*		
Ae. crassa	TN2112	کردستان		*		
Ae. crassa	TN1742	همدان		*		
Ae. crassa	TN1699	تهران		*		
Ae. crassa	TN1538	کرمانشاه		*		
Ae. crassa	TN1522	کرمانشاه		*		
Ae. crassa	TN1326	همدان		*		
Ae. crassa	TN1317	همدان	*			
Ae. crassa	TN1236	آذربایجان‌غربی		*		
Ae. crassa	TN0885	آذربایجان‌غربی		*		
Ae. crassa	TN0779	ایلام				*
Ae. crassa	TN0755	ایلام				*
Ae. crassa	TN0744	فارس		*		
Ae. crassa	TN0730	فارس			*	
Ae. crassa	TN0723	فارس			*	
Ae. crassa	TN0721	فارس	*			
Ae. crassa	TN0720	فارس		*		
Ae. crassa	TN0689	زنجان	*			
Ae. crassa	TN0310	آذربایجان‌غربی		*		
Ae. crassa	50131	خراسان		*		
Ae. crassa	50119	خراسان				*
Ae. crassa	50092	آذربایجان‌شرقی		*		
Ae. crassa	50021	مرکزی	*			
فراوانی کل			۰/۲۰	۰/۶۰	۰/۰۸	۰/۱۲

جدول ۴. باندهای شناسایی‌شدهٔ زیرواحدهای سبک گلوتنین در ژنوم D در گونهٔ *Aegilops cylindrica*

گونه	نمونه	منشأ	a	b	c	d
Ae. cylindrica	TN2544	زنجان	*			
Ae. cylindrica	TN2537	زنجان	*			
Ae. cylindrica	TN2519	سمنان				*
Ae. cylindrica	TN2504	سمنان				*
Ae. cylindrica	TN2262	تهران			*	
Ae. cylindrica	TN1735	ایلام	*			
Ae. cylindrica	TN1733	ایلام		*		
Ae. cylindrica	TN1700	تهران		*		
Ae. cylindrica	TN1694	تهران		*		
Ae. cylindrica	TN1535	کرمانشاه	*			
Ae. cylindrica	TN1523	کرمانشاه	*			
Ae. cylindrica	TN1325	همدان	*			
Ae. cylindrica	TN1319	همدان		*		
Ae. cylindrica	TN1140	کرمانشاه	*			
Ae. cylindrica	TN0888	–	*			
Ae. cylindrica	TN0869	–	*			
Ae. cylindrica	TN0775	فارس		*		
Ae. cylindrica	TN0753	فارس		*		
Ae. cylindrica	TN0710	مازندران	*			
Ae. cylindrica	TN0706	مازندران	*			
Ae. cylindrica	TN0696	مازندران		*		
Ae. cylindrica	TN0588	خراسان				*
Ae. cylindrica	TN0383	همدان	*			
Ae. cylindrica	TN0351	مرکزی			*	
Ae. cylindrica	50115	خراسان	*			
Ae. cylindrica	50077	آذربایجان‌شرقی	*			
Ae. cylindrica	50072	آذربایجان‌غربی			*	
فراوانی کل			۰/۵۱۸۶	۰/۲۵۹۲	۰/۱۱۱۱	۰/۱۱۱۱

تنوع ژنتیکی (ζ) در جمعیت‌های گندم نان، *Ae. crassa*، *Ae. cylindrica* و *Ae. tauschii* به‌ترتیب ۰/۶۵۶۴، ۰/۵۷۹۲، ۰/۶۳۷۸ و ۰/۶۲۱۴ برآورد شد که بیشترین تنوع ژنتیکی در گندم مشاهده شد. همچنین تنوع ژنتیکی متوسط (H) برای کل جمعیت ۰/۶۲۹۴ به‌دست آمد (جدول ۷). Hosenian Khoshru *et al.* (2010) با کمک چهار جفت آغازگر اختصاصی ژنوم D، ۲۲ آلل را در ۶۲ رقم گندم نان در سطح DNA شناسایی کردند و میزان تنوع ژنتیکی و تنوع ژنتیکی متوسط (شناسایی با PCR) گزارش‌شدهٔ آنها بیشتر از میزان تنوع ژنتیکی و تنوع ژنتیکی متوسط (شناسایی با SDS-PAGE) این پژوهش است. این وضعیت ممکن است ناشی از این باشد که بعضی از این آلل‌ها در سطح پروتئین بیان نمی‌شوند. همچنین در صورت بیان به‌مقدار ناچیزی‌اند که با روش مورد بررسی در این پژوهش تشخیص داده نمی‌شوند.

ژنوم D مهم‌ترین ژنوم گندم است که تنوع بسیار زیادی برای تعیین کیفیت دارد و همهٔ نمونه‌های موجود در این پژوهش، این ژنوم را دارند. جنس *Aegilops* حاوی نزدیک‌ترین گونه‌ها به گندم است و همواره جریان

ژنی بین این دو جنس برقرار بوده است. براساس شواهد ژنتیکی *Ae. tauschii* دهندهٔ ژنوم D به گندم است و می‌تواند به‌آسانی با گندم تتراپلوئید تلاقی یابد (Dvorak *et al.*, 1998). به‌علت اهمیت این ژنوم، تلاش‌های فراوانی برای شناسایی و انتقال ژن به خویشاوندان زراعی انجام گرفته است. شایان ذکر است که این چهار گونه گیاهان خودگشن هستند. خزانهٔ ژنی این گونه‌ها اطلاعات باارزشی را درمورد آنها دارد. زیرواحدهای سبک گلوتنین توسط خانواده‌های ژنی رمز می‌شوند و دارای الگوی باننددهی پیچیده‌اند. بنابراین نسبت به زیرواحدهای سنگین مطالعات کمتری در مورد آنها صورت گرفته است. نتایج این تحقیق نشان داد که ژنوم D نمونه‌های گندم نان، بیشترین تنوع ژنتیکی را در مقایسه با سایر نمونه‌ها دارد و فراوانی نسبی آلل a نیز بیشتر از دیگر نمونه‌ها است. با وجود این، تنوع آللی مشاهده‌شده در خویشاوندان وحشی نیز زیاد است و از این تنوع می‌توان در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود گلوتنین نان گندم زراعی استفاده کرد.

جدول ۵. باندهای شناسایی‌شدهٔ زیرواحدهای سبک گلوتنین در ژنوم D در گونهٔ *Aegilops tauschii*

گونه	نمونه	منشأ	a	b	c	d
Ae. tauschii	TN0312	آذربایجان‌غربی				*
Ae. tauschii	TN2579	گیلان		*		
Ae. tauschii	TN2570	گیلان			*	
Ae. tauschii	TN2554	زنجان	*			
Ae. tauschii	TN2545	زنجان	*			
Ae. tauschii	TN2535	زنجان		*		
Ae. tauschii	TN2520	سمنان	*			
Ae. tauschii	TN2505	سمنان	*			
Ae. tauschii	TN2497	سمنان	*			
Ae. tauschii	TN2243	آذربایجان‌شرقی		*		
Ae. tauschii	TN2223	آذربایجان‌شرقی	*			
Ae. tauschii	TN2120	خراسان			*	
Ae. tauschii	TN1952	ایلام	*			
Ae. tauschii	TN1695	تهران			*	
Ae. tauschii	TN1688	تهران	*			
Ae. tauschii	TN1211	تهران		*		
Ae. tauschii	TN0698	مازندران				*
Ae. tauschii	TN0697	مازندران	*			
Ae. tauschii	TN0694	مازندران		*		
Ae. tauschii	TN0693	مازندران			*	
Ae. tauschii	TN0690	مازندران	*			
Ae. tauschii	TN0621	خراسان	*			
Ae. tauschii	TN0372	-	*			
Ae. tauschii	TN0308	آذربایجان‌غربی		*		
Ae. tauschii	TN0304	آذربایجان‌غربی	*			
Ae. tauschii	50124	خراسان	*			
Ae. tauschii	50006	مرکزی	*			
Ae. tauschii	50037	کرمانشاه		*		
فراوانی کل			۰/۵۳۵۷	۰/۲۵	۰/۱۴۲۹	۰/۰۷۱۴

جدول ۶. باندهای شناسایی‌شدهٔ زیرواحدهای سبک گلوتنین در ژنوم D در گونهٔ *Triticum aestivum*

گونه	نمونه	منشأ	a	b	c	d
T. aestivum	KC609	کرمانشاه		❊		
T. aestivum	KC851	مازندران		❊		
T. aestivum	KC480	تهران		❊		
T. aestivum	KC1854	سمنان	❊			
T. aestivum	KC1856	سمنان	❊			
T. aestivum	KC2164	فارس	❊			
T. aestivum	KC2195	فارس		❊		
T. aestivum	KC2324	یزد			❊	
T. aestivum	KC15344	خراسان	❊			
T. aestivum	KC15442	-	❊			
T. aestivum	KC15441	-		❊		
T. aestivum	KC855	مازندران		❊		
T. aestivum	KC1584	زنجان		❊		
T. aestivum	KC15562	مرکزی	❊			
T. aestivum	KC1585	زنجان	❊			
T. aestivum	KC15500	کردستان	❊			
T. aestivum	KC15621	مرکزی	❊			
T. aestivum	KC15629	خراسان		❊		
T. aestivum	KC15729	ایلام		❊		
T. aestivum	KC16064	یزد			❊	
T. aestivum	KC16804	ایلام		❊		
T. aestivum	KC16224	کردستان				❊
T. aestivum	KC16829	کرمانشاه			❊	
T. aestivum	KC16886	همدان	❊			
T. aestivum	KC479	تهران				❊
T. aestivum	KC367	همدان	❊			
T. aestivum	KC127	آذربایجان‌غربی		❊		
T. aestivum	KC129	آذربایجان‌غربی		❊		
T. aestivum	KC19	آذربایجان‌شرقی		❊		
T. aestivum	KC18	آذربایجان‌شرقی			❊	
فراوانی کل			۰/۳۶۶۷	۰/۴۳۳۳	۰/۱۳۳۳	۰/۰۶۶۷

جدول ۷. تنوع ژنتیکی (Ĥ) جمعیت‌های بررسی‌شده این پژوهش

	T. aestivum	*Ae. crassa*	*Ae. cylindrica*	*Ae. tauschii*	کل جمعیت
تنوع ژنتیکی (Ĥ)	۰/۶۵۶۴	۰/۵۷۹۲	۰/۶۳۷۸	۰/۶۲۱۴	۰/۶۲۹۴

سپاسگزاری

از بخش ژنتیک مؤسسهٔ اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر برای در اختیار قرار دادن نمونه‌های این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Bamneshin, M., Naghavi, M. R., Taleii, A. R. & Aghaii, M. J. (2009). Variation of the High Molecular Weight Glutenin Subunit (HMW-GS) in Iranian accessions of *Aegilops crassa*. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 40, 103-111.

2. Cassidy, B. G., Dvorak, J. & Anderson, O. D. (1998). The wheat Low-Molecular-Weight Glutenin genes: Characterization of six new genes and progress in understanding gene family structure. *Theoretical and Applied Genetics*, 96, 743-750.
3. D'Ovidio, R. & Masci, S. (2004). The low-molecular-weight Glutenin subunits of wheat gluten. J. *Cereal Sci*, 39, 321-339.
4. Dubcovsy, J., Echaide, M., Giancola, S., Rousset, M., Lou, M. C., Joppa, L. R. & Durak, J. (1997). Seed-storage-protein loci in RFLP maps of diploid, tetraploid, and hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 95, 1169-1189.
5. Dvorak, J., Luo, M. C., Yang, Z. L. & Zhang, H. B. (1998). The structure of the *Aegilops tauschii* genepool and the evolution of hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 97, 657-670.
6. Gupta, R. B., Khand, K. & Macritchie, F. (1993). Biochemical basis of flour properties in bread wheat. I. Effects of variation in quantity and size distribution of polymeric protein. *Journal of Cereal Science*, 18, 23-41.
7. Gupta, R. B. & Shepherd, K. W. (1990). Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. I. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 80, 65-74.
8. Hosenian Khoshru, H., Bihamta, M. R., Hasani, M. E. & Omidi, M. (2010). Allelic Diversity of Low-Molecular-Weight Glutenin Subunits in Commerical Genotypes of Iranian Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) using Specific Markers. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 40, 345-354.
9. Ikeda, T. M., Branlard, G., Pena, R. J., Takata, K., Liu, L., Lerner, S. E. & Kolman, M. A. (2008). International collaboration for unifying Glu-3 nomenclature system in common wheats. In: Proceedings of *the 11Th International Wheat Genetics Symposium*. Sydney University Press.
10. Isadi Darbandi, A. (2008). *Evaluation of LMW Glutenin in Wheat*. M.Sc. thesis University of Tehran.
11. Jackson, EA, Holt, L.M. & Payne, P.I. (1983). Characterization of high molecular weight gliadin and Low-Molecular-Weight Glutenin Subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localization of their controlling genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 66(1), 29-37.
12. Laemmli, U. K. (1970). SDS-PAGE. *Nature*; 227, 680-685.
13. Liu L., Ikeda T. M., Branlard, G., Peña R. J., Rogers, W. J., Lerner, S. E., Kolman, M. A., Xia, X., Wang, L., Ma, W., Appels, R., Yoshida, H., Wang, A., Yan, Y. & He, Z. (2010). Comparison of Low Molecular Weight Glutenin Subunits identified by SDS-PAGE, 2-DE, MALDI-TOF-MS and PCR in common wheat. *BMC Plant Biology*, 10, 124.
14. McFadden E. S. & Sears, E. R. (1946). The origin of *Triticum speltaandits* free-threshing hexaploid relatives. *Journal of Heredity*; 37, 81-89, 107-116.
15. Naghavi, M. R., Ranjbar, M., Zali, A., Aghaei, M. J., Mardi, M. & Parseyedi, S. M. (2009). Genetic diversity of *Aegilops crassa* and its relationship with *Aegilops tauschii* and the D genome of wheat. *Cereal Research Communications*; 37(2), 159-167.
16. Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. In: Proceedings of *National Academy of Science USA*, 70, 3321-3323.
17. Payne, P. I. (1987). Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 38, 141-153.
18. Peng, J. H., Sun, D. & Nevo, E. (2011). Domestication evolution, genetics and genomics in wheat. *Moleular Breeding*, 28, 281-301.
19. Singh, N. & Shepherd, K. (1988a). Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. 2. Genes on the long arms of group 1 chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 75, 642-650.
20. Singh, N. & Shepherd, K. (1988b). Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. 1. Genes on the short arms of group 1 chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 75, 628-641.
21. Singh, N. K., Shepherd, K. W. & Cornish, G. B. (1991). A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science*, 14, 203-208.