DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2014.4956

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۱، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۲۰۸-۱۹۸ (۱۳۹۲)

ارزیابی و مقایسه پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در برخی از گونه‌های آژیلوپس ایران

پونه قربانی[۱]، محمدجعفر آقایی[۲*]، شاهین واعظی[۳] و محمدعلی ابراهیمی[٤]

۱- کارشناس ارشد، بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور، کرج
۲*- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، بانک ژن ملی گیاهی ایران، کرج
پست‌الکترونیک : Mjaghaei@spii.ir
۳ - استادیار، بانک ژن ملی گیاهی ایران، کرج
٤- استادیار، دانشگاه پیام نور، کرج

تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۰۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۰٦

چکیده

تنوع ژنتیکی پایه و اساس اصلاح گیاهان محسوب شده که گزینش و بهبود گیاهان با صفات و خصوصیات مطلوب را ممکن می‌سازد. با توجه به اهمیت پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در برنامه‌های به‌نژادی گندم نان، مطالعه تنوع ژنتیکی برای این پروتئین‌ها در میان خویشاوندان گندم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این بررسی تنوع ژنتیکی برای پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در میان ۱۰۵ نمونه از گونه‌های *Aegilops* شامل *Ae. triuncialis*، *Ae. neglecta*، *Ae. kotschyi*، *Ae. cylindrica*، *Ae. crassa*، *Ae. columnaris*، *Ae. speltoides*، *Ae. umbellulataa* و *Ae. tauschii* طبق روش ژل اکریلامید سدیم دو دسیل سولفات (SDS-PAGE) مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع ۲۲ باند پروتئینی در قالب ۲٤ طرح مختلف در میان نمونه‌ها مشاهده شد. بیشترین تنوع در گونه *Ae. neglecta* با شاخص ۰/۱۲ و کمترین تنوع در گونه *Ae. cylindrica* با شاخص ۰/۰۳ مشاهده گردید. در میان استان‌های مبدأ نمونه‌ها، استان‌های تهران و آذربایجان شرقی با شاخص ۰/۱۳ بیشترین تنوع و استان لرستان با شاخص ۰/۰٦ از تنوع کمتری برخوردار بودند. در گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از روش اتصال بین گروهی گونه‌ها و همچنین استان‌های مورد بررسی به سه گروه تقسیم شدند. بیشترین فاصله ژنتیکی بین گونه *Ae. crassa* و *Ae. triuncialis* و کمترین فاصله ژنتیکی میان گونه *Ae. umbellulata* و *Ae. neglecta* مشاهده شد. همچنین در میان استان‌های مبدأ نمونه‌ها، استان‌های لرستان و سمنان بیشترین فاصله و استان‌های کرمانشاه و ایلام کمترین فاصله را از یکدیگر نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: آژیلوپس، پروتئین‌های ذخیره‌ای، تنوع ژنتیکی.

مقدمه

آژیلوپس‌ها به‌عنوان 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 ژرم‌پلاسم با تنوع بسیار وسیع، و همچنین به دلیل داشتن ویژگی‌هایی در ارتباط با

سازگاری بلند مدت اهمیت بسزایی در برنامه‌های اصلاحی گندم دارد (Bushuk & Zillman, 1978).

این گیاهان به خوبی به تنش‌های زنده و غیر زنده در نواحی خشک و تغییرات دوره‌ای و سال به سال شرایط اقلیمی آن سازگار شده‌اند و تنوع زیادی از ژن‌های تحمل به تنش‌ها و سازگاری را ذخیره کرده‌اند که می‌تواند در توسعه سازگاری‌ها و تنوع ژنتیکی گندم بکار برده شوند (Schneider *et al*, 2008; Jaffaraghaei *et al.*, 2007). آژیلوپس‌ها در سطوح پلوئیدی دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید یافت می‌شوند و نشان داده شده که گونه‌های پلی‌پلوئید، آمفی‌پلوئیدهایی حاصل از ترکیبات مختلف ژنوم گونه‌های دیپلوئید هستند (Kimber & Feldman, 1987) که در طول تکامل این گونه‌ها شکل گرفته‌اند. سه ژنوم اساسی A، D و U در مجموعه گندم/آژیلوپس‌ها شناخته شده هستند. همه گندم‌های دیپلوئید و پلی‌پلوئید در خوشه ژنوم A قرار دارند. خوشه ژنوم D شامل گونه دیپلوئید *Ae. tauschii* Cosson و پنج گونه پلی‌پلوئید از بخش *Vertebrata* Zhuk. emend. Kihara ازجمله *Ae. crassa* Boiss و بخش *Cylindropyrum* (Jaub. & Spach) Zhuk. ازجمله *Ae. cylindrica* Host است. خوشه ژنوم U شامل گونه دیپلوئید *Ae. umbellulata* Zhuk و هفت گونه پلی‌پلوئید از بخش *Aegilops* L. ازجمله *Ae. columnaris* Zhuk و *Ae. neglecta* Req. ex Bertol و *Ae. triuncialis* (L.) Á. Löve است (Morris & Sears, 1967; Kimber, & Feldman, 1987). علاوه بر این سه ژنوم اساسی، ژنوم‌های فرعی دیگری نیز در این مجموعه یافت می‌شوند که به نظر می‌رسد از ژنوم‌های اصلی مشتق شده‌اند، ازجمله ژنوم S که در گونه دیپلوئید *Ae. Speltoides* Tausch و چهار گونه پلی‌پلوئید بخش *Sitopsis* (Jaub. & Spach) Zhuk. یافت می‌شوند (Kimber & Sears, 1987).

یکی از خصوصیات مهم و باارزش گندمیان پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه هستند. ژن‌های کنترل‌کننده این پروتئین‌ها بر روی کروموزوم‌های ۱ و ٦ ژنوم‌های A، B و D گندم نان شناسایی و مطالعه شده‌اند (Metakovsky 1991, Payne *et al.*, 1983). این ژن‌ها بر روی برخی از گونه‌های دارای ژنوم مشابه گندم نان نیز مشاهده و مطالعه شده‌اند. ازجمله Bamneshin و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه زیر واحدهای گلوتنین در میان نمونه‌هایی از گونه *Ae. crassa.* تنوع بالایی را گزارش کردند. در یک بررسی دیگر، Ghasemzade (2008) در بررسی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در گونه *Ae. tauschii* نشان داد که این گونه نسبت به گندم نان از تنوع زیادی برای پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه برخوردار است. همچنین Jaffaraghaei و همکاران (۲۰۱۳) پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در نمونه‌های *T. boeoticum* را مطالعه کردند. آنها هشت الگوی باندی با ۱۰ آلل را در مکان ژنی GLU-A1 و ۲۵ الگوی باندی با ۱۳ آلل را در مکان ژنی GLU-A3 مشاهده کردند.

با توجه به اهمیت و کاربرد آجیلوپس در اصلاح نباتات و اینکه ایران به‌عنوان یکی از مراکز مهم پیدایش و تنوع گندم و خویشاوندان وحشی آن می‌باشد و از آنجا که پیش شرط استفاده از منابع ژنتیکی وحشی در اصلاح نباتات اطلاع از میزان تنوع ژنتیکی برای صفات مهم زراعی در آنهاست، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی برای پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در برخی از گونه های کلکسیون آژیلوپس ایران اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل ۱۰۵ نمونه از جنس*Aegilops* و از گونه‌های *Ae. columnaris*، *Ae. crassa*، *Ae. cylindrica*، *Ae. kotschyi*، *Ae. neglecta*، *Ae. triuncialis*، *Ae. umbellulataa*، *Ae. speltoides* و *Ae. tauschii* بود که از کلکسیون بانک ژن گیاهی ملی ایران، انتخاب شده بودند (جدول ۱).

جدول ۱- تعداد نمونه‌های مورد بررسی از هر گونه

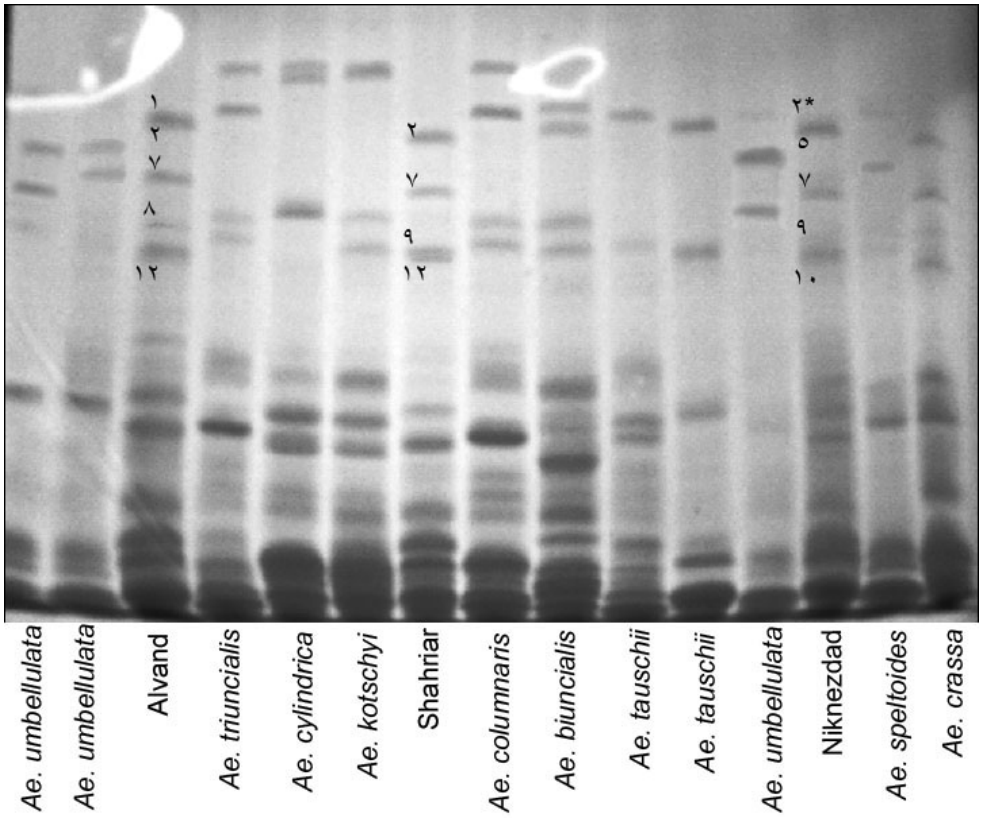
ژنوم	نمونه	تعداد	ژنوم	نمونه	تعداد
DD	*Ae. tauschii*	۱۳	UUMM	*Ae. neglecta*	۱۱
UU	*Ae. umbellulata*	۱۰	UUSS	*Ae. kotschyi*	٤
SS	*Ae. speltoides*	۱۱	DDMM	*Ae. crassa*	۱۳
UUMM	*Ae. columnaris*	۱۲	DDCC	*Ae. cylindrica*	۱۳
UUCC	*Ae. triuncialis*	۱۲	UUMM	*Ae. biuncialis*	٦

استخراج پروتئین به روش لایملی صورت گرفت (Laemmli, 1970) و از ارقام نیک‌نژاد (*۲, ۹+۷, ۱۰+۵)، شهریار (N، ۹+۷, ۱۲+۲)، چایز اسپرینگ (N، ۸+۷, ۱۲+۲) و الوند (۱, ۸+۷, ۱۲+۲) به‌عنوان شاهد استفاده شد. یک بذر از هر نمونه برداشته شده و پس از حذف جنین خرد گردید. مواد گیاهی خرد شده به تیوب‌های اپندروف ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل گردید و ۱۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج (۱۸/۷۵ میلی‌لیتر بافر تریس ۲۰ درصد با ٦/۸ =pH، ٦ گرم SDS، ۳۰ میلی‌لیتر گلیسرول، ۲۵ میلی‌گرم کوماسی بلو، ۳٦/۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر) به هر تیوب اضافه گردید. محتوی داخل تیوب‌ها به مدت یک ساعت و در فواصل ۱۵ دقیقه‌ای با استفاده از ورتکس مخلوط گردید. سپس به مدت ۸ تا ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند. به‌منظور غیر فعال نمودن آنزیم‌های پروتئاز، تیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۷۰ تا ۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و بعد جهت حذف مواد زائد عمل سانتریفیوژ با دور ٦۵۰۰ در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. در این مرحله سوپرناتانت شفاف رویی به تیوپ اپندروف جدید منتقل گردید. انجام الکتروفورز به روش SDS-PAGE با استفاده از ژل اکریل‌آمید با غلظت ۱۰٪ طبق روش لایملی با اندکی تغییرات در حجم مواد انجام گردید (Laemmli, 1970). باندهای مشاهده شده برای تمامی پروتئین‌ها در مقایسه با باندهای شاهد شماره‌گذاری شدند. براساس موقعیت و محل قرارگیری باندها در نمونه‌های مختلف طرح‌های کلی باندها در میان نمونه‌های مورد بررسی تعیین شدند. در ادامه باندهای مشاهده شده به روش صفر و یک امتیازدهی شده و پارامترهای تنوع ژنتیکی بین جمعیتی شامل تنوع کل، تنوع درون‌جمعیتی (Karp *et al.*, 1998)، شاخص شانون، تمایز جمعیت‌ها، جریان ژنی (Jakse & Kindlhofer, 2001) و پارامترهای ژنتیکی درون‌جمعیتی شامل تعداد آلل واقعی، تعداد آلل مؤثر (Hedrick, 1999)، تنوع ژنتیکی (Freeland, 2006) و شاخص شانون با استفاده از نرم‌افزار POP GENE محاسبه گردید (Nei, 1987)؛ و با استفاده از ماتریس تشابه جاکارد و روش اتصال بین گروهی (*Between*

groups linkage) تجزیه خوشه‌ای به کمک نرم‌افزار SPSS انجام شد. همچنین فواصل ژنتیکی میان گونه‌ها با روش مقیاس‌بندی چندبعدی بر روی یک نقشه دوبعدی ترسیم گردید. تفاوت در فراوانی یا حضور بندها در ژنوم‌های مختلف مورد بررسی با استفاده از جدول‌های توافقی و مربع کای بررسی گردیده و بندهایی که فراوانی آنها در سطح احتمال یک درصد از مقادیر مورد انتظار متفاوت بود به‌عنوان بندهای متمایزکننده معرفی گردیدند.

نتایج

در بررسی باند بر روی ژل‌های الکتروفورز در میان نمونه‌های مورد بررسی مجموعه‌ای از ۲۲ باند دیده شد که باندهای مشاهد شده از B1 تا B22 نام‌گذاری شدند. یکی از ژل‌های مورد بررسی در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- باندهای حاصل از تفکیک پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در نمونه‌هایی از برخی گونه‌های آژیلوپس ایران بر روی ژل اکریلامید ۱۰٪

بیشترین فراوانی مربوط به باند B22 و برابر با ۰/۴۹ بود و در نمونه‌های گونه‌های *Ae. columnaris*، *Ae. crassa*، *Ae. cylindrica*، *Ae. neglecta*، *Ae. speltoides*، *Ae. tauschii*، *Ae. Triuncialis* و *Ae. umbellulataa* مشاهده شد. دو گونه *Ae. biuncialis* و *Ae. kotschyi* فاقد این باند بودند.

کمترین فراوانی مربوط به باند *B5* و برابر با ٤ ۰/۰۰ بود، این باند تنها در گونه*Ae. columnaris* به طور اختصاصی مشاهده شد. همچنین باند *B7* فقط در گونه *Ae. Umbellulata* و باند *B14* فقط در گونه*Ae. crassa* مشاهده شد و در گونه‌های دیگر مشاهد نگردید. بیشترین تنوع در گونه *Ae. neglecta*، با شاخص تنوع ژنتیکی۰/۱۲ و کمترین تنوع در گونه *Ae. cylindrica* با شاخص تنوع ژنتیکی ۰/۰۳ مشاهده گردید (جدول ۲). در میان استان‌های مبدأ نمونه‌ها، استان‌های تهران و آذربایجان‌شرقی با شاخص ۰/۱۳ بیشترین تنوع و استان لرستان با شاخص ۰/۰٦ از تنوع کمتری برخوردار بودند. متوسط تعداد آلل واقعی برای باندهای مشاهده شده ۲ و متوسط آلل مؤثر ۱/۲ بود. دامنه تنوع ژنتیکی برای باندهای پروتئینی از ۰/۰۰۵ تا ۰/٤۸ بود که کمترین و بیشترین تنوع به‌ترتیب مربوط به باندهای B5 و B22 بود. همچنین میانگین تنوع ژنتیکی کل برابر با ۰/۱۵ بود. همچنین پارامترهای ژنتیکی بین جمعیتی در نمونه‌های مطالعه شده در جدول ۲ و میانگین پارامترهای ژنتیکی درون‌جمعیتی در جدول ۳ ارائه شده است .

جدول ۲- پارامترهای ژنتیکی بین جمعیتی در نمونه‌های مطالعه شده کلکسیون *Aegilops* ایران

	شاخص شانون (I)	تنوع کل (Ht)	تنوع درون‌جمعیتی (Hs)	تمایز جمعیت‌ها (Gst)	جریان ژنی (Nm)
حداقل	۰/۰۳	۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۳٤	۰/۰٦
حداکثر	۰/٦۹	۰/٤۸	۰/۲۱	۰/۸۸	۱۳/۸۱
میانگین	۰/۲۵	۰/۱۵	۰/۰۸	۰/٤۵	۰/۵۸

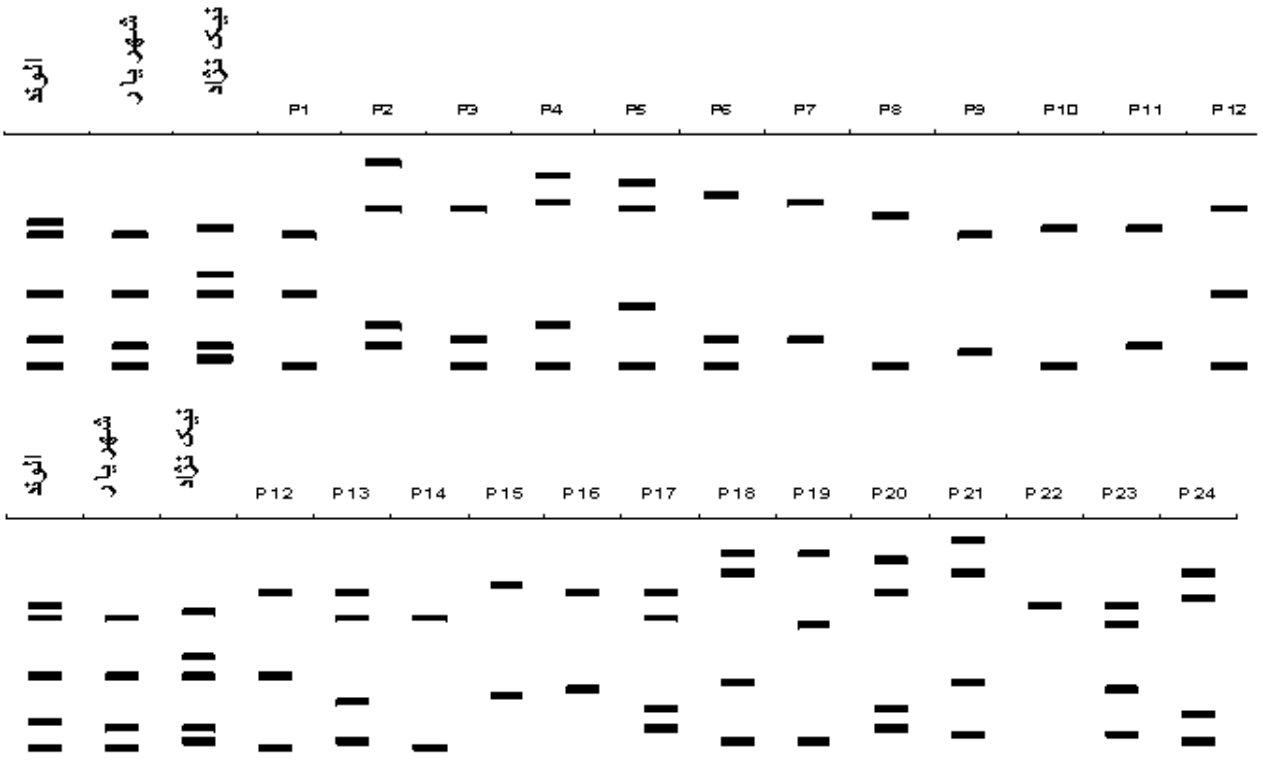
جدول ۳- میانگین پارامترهای ژنتیکی درون‌جمعیتی در نمونه‌های مطالعه شده کلکسیون *Aegilops* ایران

نام گونه	تعداد آلل واقعی (Na)	تعداد آلل مؤثر (Ne)	شاخص شانون (I)	تنوع ژنتیکی (H)
Ae. biuncialis	۱/۲۲	۱/۱٤	۰/۱۲	۰/۰۸
Ae. colomunaris	۱/٤۰	۱/۱۸	۰/۱۷	۰/۱۱
Ae. crassa	۱/۱۸	۱/۰۷	۰/۰۷	۰/۰٤
Ae. cyllindrica	۱/۱۳	۱/۰٦	۰/۰٦	۰/۰۳
Ae. neglecta	۱/۵۹	۱/۱۷	۰/۲۰	۰/۱۲
Ae. speltoides	۱/٤۵	۱/۱۵	۱/۱۷	۰/۱۰
Ae. tauschii	۱/۲۲	۱/۱۱	۰/۱۰	۰/۰۷
Ae. umbellulata	۱/۲۷	۱/۱۳	۰/۱۲	۰/۰۸
Ae. kotschyi	۱/۲۲	۱/۱٦	۰/۱۳	۰/۰۹
Ae. triuncialis	۱/۲۷	۱/۱۱	۰/۰۷	۰/۱۰

در یک بررسی مشابه تنوع ژنتیکی ۵ گونه *Ae. ventricosa*، *Ae. ovata*، *Ae. neglecta*، *Ae. biuncials* و *Ae. triuncialis* از کشور اسپانیا با ۵ ترکیب پرایمری AFLP توسط Monte و همکاران (۲۰۰۱) مورد مطالعه قرار گرفت و در مجموع ۵۲۷ باند مشاهده شد و میزان چندشکلی ۹۸٪ بود. همچنین *Kochieva* و همکاران (۲۰۰٤) تنوع ژنتیکی ۷٤ توده از گونه‌های *Ae. vavilovii*، *Ae. cylindrica*، *Ae. crassa*، *Ae. Juvenalis* و *Ae. tauschii* را به وسیله مارکر RAPD مورد ارزیابی قرار دادند که بالاترین تنوع داخل گونه‌ای در *Ae. tauschii* و کمترین تنوع داخل گونه‌ای در گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. vavilovii* مشاهده شد.

مطالعه‌ای بر روی ۷۷ رقم گندم نان با روش SDS-PAGE توسط Shahid Masood و همکاران (۲۰۰٤) در پاکستان انجام شد که در آن تحقیق ۸ آلل مشاهده شد و میانگین تمایز جمعیت‌ها (*Gst*)، تنوع درون‌جمعیتی (*Hs*) و تنوع کل (*Ht*) به‌ترتیب برابر۰/۷۳، ۰/۱ و ۰/۳۹ بود. در بررسی دیگری Yong Lio و همکاران (۲۰۰۷)، ۱۱۱ رقم زراعی گندم نان را به روش سدیم دو دسیل سولفات مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی ۱٦ آلل مشاهده شد و میانگین تنوع کل (*Ht*)، تنوع درون‌جمعیتی (*Hs*) و تمایز جمعیت‌ها (*Gst*) به‌ترتیب برابر۰/٤، ۰/۱۹ و ۰/۲۳ بود.

باندهای مشاهده شده در قالب ۲٤ طرح کلی که در میان نمونه‌های مورد بررسی مشترک بودند شناسایی شدند، این طرح‌ها در شکل شماره ۲ نشان داده شده‌است.



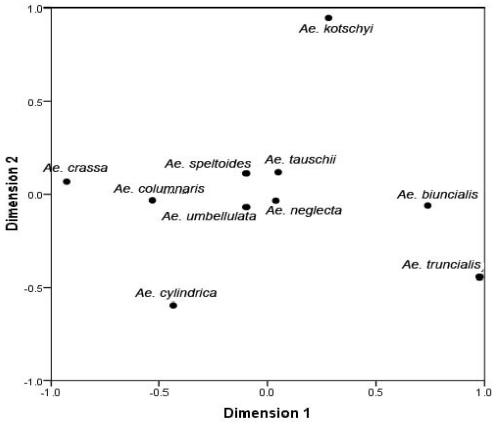
شکل ۲– P1 تا P24 شماره طرح بندهای پروتئینی مشاهده شده در میان نمونه‌های مورد بررسی، در مقابل طرح‌های مشاهد شده در میان نمونه‌های شاهد الوند، شهریار و نیک‌نژاد

در میان نمونه‌ها طرح شماره ۳ دارای بیشترین فراوانی و برابر با ۰/۵۸ را نشان داد و در گونه‌های *Ae. Cylindrica*، *Ae. Speltoides* و *Ae. triuncialis* مشاهده شد و طرح‌های شماره ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲،۲۳ و ۲٤ کمترین فراوانی برابر ۰/۰٤ را نشان داده و در گونه‌های *Ae. crassatt*، *Ae. triuncialis*، *Ae. columnaris*، *Ae. tauschii*، *Ae. speltoides* و *Ae. Neglecta* مشاهده گردید. جدول شماره ٤ طرح‌های مشاهده شده در هر گونه و همچنین طرح‌هایی که به صورت اختصاصی فقط در یک گونه مشاهده شد را نشان می‌دهد.

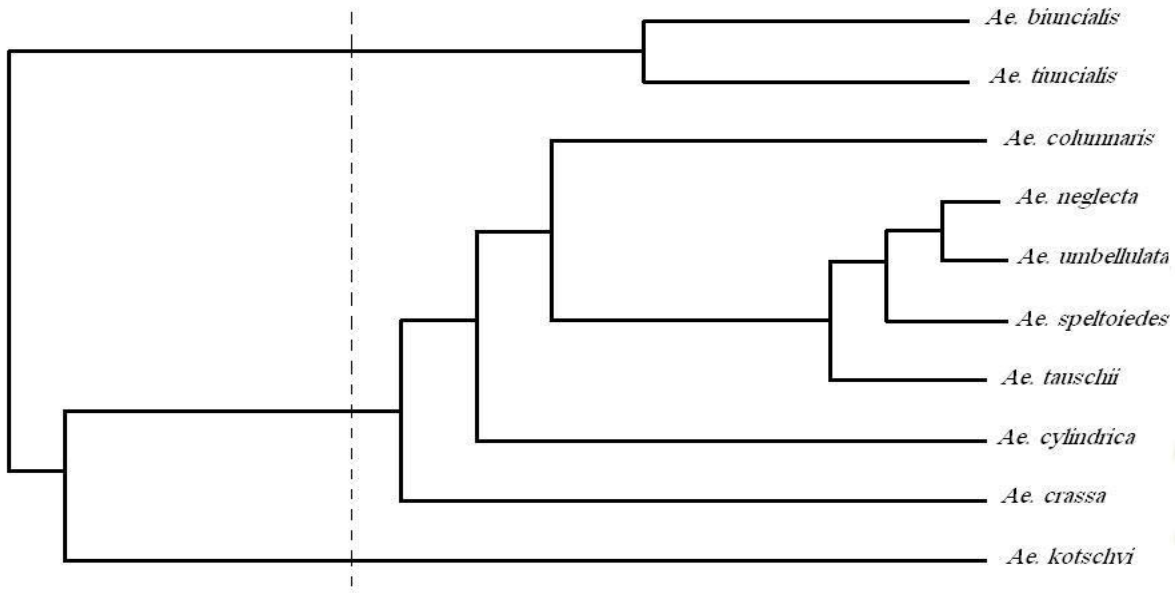
جدول ٤ – طرح‌های اختصاصی و غیراختصاصی مشاهده شده در گونه‌های مورد مطالعه کلکسیون *Aegilops* ایران

نام گونه	طرح مشاهده شده در هر گونه*	طرح اختصاصی **
Ae. biuncialis	۲، ۱۱، ۱۷	----------
Ae. colomunaris	٤، ۵، ۱۸، ۲۱	۲۱
Ae. crassa	۱٤، ۱، ۱۹	۱،۱۹
Ae. cyllindrica	۳،۱٤	----------
Ae. neglecta	۱۳،۱۷،۲٤،٤،۵،٦	۱۳،۲٤
Ae. speltoides	۲۳،۱٦،۱۵،۳،۱۰،۱۲	۱۲،۱٦،۲۳
Ae. tauschii	۲۲،۱۰،۱۱،۹	۹،۲۲
Ae. umbellulata	۱۵،۷،۸،٦	۷،۸
Ae. kotschyi	۱۵،۱۸	----------
Ae. triuncialis	۲۰،۳،۲	۲۰

*به شکل ۲ مراجعه شود. ** منظور طرح‌هایی که به طور اختصاصی تنها در یک گونه معین مشاهده گردید است.



شکل ۳- نمودار پراکنش گونه‌های مختلف کلکسیون *Aegilops* ایران براساس فواصل ژنتیکی (Nei, 1987) با استفاده از روش مقیاس‌بندی چند بعدی



شکل ٤- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای گونه‌های مختلف مورد بررسی در کلکسیون *Aegilops* ایران

جدول ٥- مقادیر X^2 برای بندهایی که دارای فراوانی متفاوتی در میان ژنوم گونه‌های مورد بررسی بودند

شماره	گونه‌های حاوی ژنوم				
بندها	D	U	C	M	S
B1	١١/١٥**	١٧/١٦**	١٥/٥٨**		
B2		٦/٨**		١١/٢٥**	
B3					١١/٢٥**
B8	٨**	١٢/٣٢**		٢٠/٣٢**	
B9			٣٧/٨٤**		
B10		٨/٢٥**			٣١/٢٥**
B12	١٧/١٤**	٨/٥٩**		١٨/٣٤**	
B14	٢٠/٧٩**	١٣/٥٢**		١٨/٤٣**	
B15					٣٨/١٨**
B17					١٤/٢٦**
B18	٢٠/٤٣**	٣١/٤٢**			
B19			٢٣/١١**	١٢/٦١**	
B20		٧/٣٤**	٧/٣٧**		
B21					١٨/٥٣**
B22	١٤/٦٣**	١٢/٥٧**			

بحث

فاصله ژنتیکی یکی از روش‌های تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی در جمعیت‌هاست که در واقع معیار تفاوت موجود در بین افراد جمعیت‌های مختلف را به صورت آللی شرح می‌دهد. در این بررسی بیشترین فاصله ژنتیکی بین *Ae. crassa* و *Ae. triuncialis* و کمترین فاصله ژنتیکی بین *Ae. umbellulata* و *Ae. neglecta* مشاهده شد. برای درک بهتر روابط میان گونه‌ها، با استفاده از فواصل ژنتیکی میان گونه‌ها و استفاده از روش مقیاس‌بندی چند بعدی پراکنش گونه‌ها در یک نقشه دو بعدی ترسیم گردید (شکل ۳).

همانگونه که در شکل ۳ نشان داده شده است گونه‌های *Ae. neglecta*، *Ae. colomunaris* *Ae. tauschii* و *Ae. umbellulata* با فاصله اندکی از یکدیگر در مرکز جمعیت‌ها قرار دارند و گونه *Ae. kotschyi* با فاصله زیادتر دورترین گونه از سایر گونه‌ها بود. گونه‌های *Ae. biuncialis*، *Ae. cylindrica*، *Ae. triuncialis* و *Ae. crassa* در حاشیه گونه‌های مرکزی با فاصله از یکدیگر قرار گرفتند. در اثر تجزیه خوشه‌ای براساس تشابه ژنتیکی میان نمونه‌ها، گونه‌های مورد بررسی به سه گروه اصلی تقسیم شدند (شکل ٤). گروه اول گونه‌های *Ae. biuncialis* و *Ae. triuncialis* را شامل می‌شود که فاصله تقریبا نزدیکی به یکدیگر نسبت به بقیه گونه‌ها داشتند. در گروه دوم گونه‌های *Ae. neglecta*، *Ae. speltoides*، *Ae. umbellulata* و *Ae. tauschii* با فاصله کمتر و گونه‌های *Ae. cyllindrica* , *Ae. colomunaris* , *Ae. crassa* با فاصله بیشتر از هم قرار داشتند. در این گروه گونه‌های *Ae. umbellulata*، *Ae. neglecta* و *Ae .colomunaris* حاوی ژنوم UU بود و گونه‌های *Ae. crassa*، *Ae. cyllindrica* و *Ae. tauschii* حاوی ژنوم DD بودند. در گروه سوم گونه *Ae. kotschyi* با فاصله زیادی نسبت به سایر گونه‌ها قرار داشت.

در یک مطالعه هفتاد و چهار توده از گونه‌های مختلف *Aegilops* توسط *Kochieva* و همکاران (۲۰۰٤) بررسی شد. نمونه‌ها براساس تنوع ژنتیکی به دو گروه تقسیم شدند. در بررسی دیگری که توسط Arzani و همکاران (۲۰۰۵) بر روی گونه‌های *Aegilops* انجام دادند نمونه‌ها براساس صفات مورفولوژیک به چهار گروه تقسیم شدند. پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در میان گونه‌های آژیلوپس از تنوع زیادی برخوردار بوده و از تنوع گزارش شده در میان گندم‌های زراعی بسیار وسیع‌تر می‌باشد (Najafian & Baghaei, 2011). بنابراین ظرفیت استفاده از این تنوع در برنامه‌های به‌نژادی گندم نان وجود دارد. برخی از پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه اختصاص به ژنوم معینی داشته و به این ترتیب امکان تمایز میان ژنوم‌های مختلف را فراهم می‌سازد؛ مانند باندهای B1, B8 و B18 که در گونه‌های حاوی ژنوم D بطور معنی‌داری نادر بودند و بندهای B12 ، B14 و B22 بطور معنی‌داری در این ژنوم فراوانتر بودند (جدول ۵).

بندهای B10، B12، B14 و B22 بطور معنی‌داری در گونه‌های دارای ژنوم U نادر بودند و بندهای B1، B2،B8، B10 و B20 بطور معنی‌داری در این ژنوم بیشتر دیده می‌شدند. در گونه‌های دارای ژنوم C بندهای B1، B9، B19 و B20 بطور معنی‌داری فراوانتر بودند. بندهای B2، B8، B12 و B14 بطور معنی‌داری در گونه‌های حاوی ژنوم M فراوان بودند و بندهای B3، B10، B15، B17 و B21 در گونه‌های ژنوم S فراوانتر بودند (جدول ۵). به این ترتیب به نظر می‌رسد ژنوم موجود در این گونه حامل ژن‌های سازگار متفاوتی بوده و با انتقال آن به ژنوم گندم‌های نان ارقامی با

پایه‌های ژنتیکی وسیع‌تر و دامنه سازگاری مطلوب‌تر تولید می‌گردد. در تحقیق حاضر وجود تنوع ژنتیکی بالا در گونه‌های مختلف *Aegilops* مشاهده شد که از آن می‌توان به‌عنوان یک منبع ژنتیکی غنی در جهت افزایش کیفیت گندم‌های زراعی بهره برد.

منابع مورد استفاده

–Arzani, A., Khalighi, M., Shiran, B. and Kharazian, N., 2005. Evaluation of diversity in relatives of wheat. Genet. Plut, 41: 112-117.

–Bamneshin, M., Naghavi, M.R., Talei, A., Jafaraghaei, M., 2009. Genetic diversity of HMW glutenin subunit in *Aegilops crassa* accessions of Iranian landraces. Journal of Plant Sciences, 19(3): 103-11(in Farsi)

–Bushuk, W. and Zillman, R.R., 1978. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus method and nomenclature Journal of Plant Sciences, 58: 505-515.

–Freeland J.R., 2006. Molecular Ecology. Jonna Wily Prs. London England, 464pp.

–Ghasemzade, R., Bihamta, M.R., Jaffaraghaei, M., Omidi, M., Mohammadi, V. and Hasani, M.I., 2008. Intra and inter population diversity of Iranian *Aegilops tauschii* based on seed storage protein electrophoresis. International Journal of Agriculture and Biology, 10: 463–5

–Hedrick, P.W., 1999. Genetic of populations. 2nd Edition. Iones and Bartlett Pub. Sudbury MA.USA, 737 pp.

–Jaffaraghaei, M., Naghavi M.R. and Omidi, M., 2007. Importance of D genome in adaptability improvement of bread wheat. Genetics in 3rd melinium, 5(3): 1134-1142.

–Jaffaraghaei, M., Zolala, J. and Jaffaraghaei, M., 2013. Assessing genetic diversity in wild morphotypes of Iranian *Triticum boeoticum* according to the allelic variation of Glu-1A and Glu-3A gene loci. Journal of Agricultural Biotechnology, 5(1): 57-70.

–Jakse, J.K., Kindlhofer, B., 2001. Assessment of genetic variation and differention of hop genotypes by Microsatellite and AFLP markers. Genome, 44: 773-782.

–Karp, A.P., Issac, G. and Ingram, D.S. 1998. Molecular tools for screening biodiversity, Plants and Animals. 1st Edi. Chapman & Hall. London.UK, 525 pp.

–Kimber, G. and Seare, E.R., 1987. Evolution in the genus *Triticum* and origin of cultivated wheat. In: E.G. Haeyne (Ed.). Wheat and Wheat Improvement. American Society of Agronomy Inc., pp. 154-164.

–Kimber, G. and Feldman, M., 1987. Wild wheat, an introduction. College of Agriculture University of Missouri, Columbia, 142 pp.

–Kochieva, E.Z., Goryunova, S.V. and Pukhalskyi, V.A., 2004. Phylogenetic relationships and Intraspecific variation of D-Genom *Aegilops* revealed by RAPD analysis. Russian Journal of Genetics, 5: 525-523

–Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the bacteriophage T4. Natur., 227: 680-685.

–Metakovsky, E.V., 1991. Gliadin allele identification in common wheat. Catalogue if gliadin alleles in common wheat. Genetics and Breeding, 45: 325-344.

–Monte, I.V., Denova, P.I.D. and Solar, C., 2001. AFLP –based analysis to study genetic variability and relationships in the Spanish species of the genus *Aegilops*. Hereditas, 135: 233-238.

–Morris, R., Sears, E.R., 1967. The cytogenetics of wheat and its relatives. In: Quisenberry K.S., Reitz L.P., (Eds.) Wheat and Wheat Improvement. Am. Soc. Agron. Monographs, Madison, Wisconsin, pp. 9–87.

–Najafian, G. and Baghaei, N., 2011. Genetic variation in high molecular weight glutenin subunits in parental lines and cultivars of wheat used in breeding programs of cold and temperate agro - climatic zones of Iran. Seed And Plant Improvement Journal, 27(3): 305-322.

–Nei, M., 1987. Estimation of the average heterozgosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89:583-590.

–Payne, P.I. and Lawerence, G.J., 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

–Schneider, A., Molnár, I., Molnár-Láng, M., 2008. Utilization of *Aegilops* (goat grass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. Euphytica, 163:1–19

–Shahid Masood, M., 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.

–Yong, L., Zhi-Yong, X., Yong-Gang, H., Shewy R. and 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, 54: 865-874.

Evaluation and comparison of seed storage proteins in several *Aegilops* species from Iran

P. Ghorbani[1], M. Jaffaraghaei[2]*, Sh. Vaezi[3] and M.A. Ebrahimi[4]

1- M.Sc., Biotechnology, Payam Noor University, Karaj, I.R.Iran
2*- Corresponding Author, Assistant Prof., National Plant Gene Bank of Iran, Karaj, I.R.Iran.
Email: Mjaghaei@spii.ir
3- Assis. Prof., National Plant Gene Bank of Iran, Karaj, I.R.Iran.
4- Assis. Prof., Payam Noor University, Karaj, I.R.Iran.

Received : 10.27.2012 Accepted:11.08.2013

Abstract

Genetic diversity is a basic element in plant breeding which could be used to improve new lines with favorable traits. Because of importance of high molecular weight seed storage proteins in commercial wheat cultivars, investigation of diversity of the proteins in wheat lines and its wild relatives is an essential factor in breeding programs. Genetic diversity of seed storage proteins among 105 accessions of the 9 *Aegilops* species including *Ae. columnaris, Ae. umbellulataa, Ae. triuncialis, Ae. neglecta, Ae. kotschyi, Ae. cylindrica, Ae.crassa, Ae. tauschii,* and *Ae. speltoides* were evaluated by *SDS-PAGE* method. Twenty two protein bands were observed among the accessions, which grouped in 24 different patterns. The most diversity was observed on *Ae. neglecta* which its diversity index was 0.12 and the least was observed on *Ae. cylindria* with diversity index of 0.03. Among the origin provinces of the accessions, Tehran and East Azerbaijan with index of 0.13 showed the most diversity and Lorestan with index of 0.06 showed the least diversity. Cluster analysis using between group linkage method, clustered both the species and origin province of accessions into three groups. The most genetic distance was observed between *Ae. triuncialis* and *Ae. crassa*, and the least genetic distance was observed between *Ae. neglecta* and *Ae. umbellulata*. Moreover, the most genetic distance was observed among the samples of Lorestan and Semnan while the least was observed among the samples of Kermanshah and Ilam provinces.

Key words: Genetic diversity, *Aegilops*, Seed storage proteins.