تنوع آللی ژن‌های سختی دانه (پوروایندولین *a* و *b*) در گندم‌های تجاری و بومی ایران

خلیل ملک زاده، فرج اله شهریاری*، محمد فارسی و احسان محسنی فرد[۱]

(تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۲۳)

چکیده

سختی دانه یکی از مهم‌ترین خصوصیات کیفی گندم نان است که به‌وسیله آن طبقه‌بندی تجاری و نوع فرآورده نهایی تعیین می‌گردد. این صفت به وسیله دو ژن کاملاً پیوسته پوروایندولین *a* و پوروایندولین *b* کنترل می‌شود. آلل‌های نوع وحشی این دو مکان ژنی موجب فنوتیپ بافت دانه نرم می‌شوند و بروز جهش در هر یک از این دو مکان ژنی باعث سخت شدن بافت دانه می‌گردد. به دلیل اهمیت این صفت، ۶۱ رقم تجاری و ۹۲ توده بومی خالص ایرانی برای شناسایی چهار نوع آلل سختی مورد مطالعه قرار گرفتند. تعیین ارزش سختی دانه و گروه‌بندی به‌وسیله سیستم خصوصیات تک دانه انجام پذیرفت. شناسایی آلل‌های کنترل کننده سختی دانه توسط تکثیر با آغازگرهای اختصاصی و هم‌چنین تکنیک توالی‌های چندشکل حاصل از برش فرآورده تکثیریافته انجام گرفت. نمونه‌ها در سه دسته سخت، مخلوط و نرم قرار گرفتند، که فراوانی آنها در ارقام تجاری به ترتیب ۶۵/۶، ۱۹/۶ و ۱۴/۸ درصد و در توده‌های بومی ۵۸/۷، ۱۳ و ۲۸/۳ درصد بود. از چهار آلل مورد مطالعه فقط سه نوع آلل در گندم‌های مذکور دیده شد. آلل *Pina-D1b* در ۱۸ رقم، آلل *Pinb-D1b* در ۵ رقم و آلل *Pinb-D1e* فقط در رقم کویر از گندم‌های سخت تجاری یافت شد و در گندم‌های سخت توده بومی فقط دو توده حامل آلل *Pinb-D1b* بودند. آلل *Pinb-D1c* در هیچ یک از نمونه‌ها دیده نشد. گندم‌های حامل آلل *Pina-D1b* ارزش سختی دانه معنی‌دار بالاتری نسبت به گندم‌های حامل آلل *Pinb-D1b* نشان دادند. به نظر می‌رسد این ژن‌ها و روش‌های مورد استفاده می‌توانند کمک مؤثری به انتخاب سختی دانه در برنامه‌های به‌نژادی گندم نمایند.

واژه‌های کلیدی: پوروایندولین، سختی دانه، گندم

مقدمه

گندم مهم‌ترین و سازگارترین گونه زراعی جهان به شمار می‌آید و در شرایط اقلیمی گوناگون قابلیت کشت دارد (۱، ۹ و ۲۳). نود و پنج درصد گندمی که امروزه کشت می‌شود از نوع هگزاپلوئید یا همان گندم نان (*Triticum aestivum*) می‌باشد. گندم نان به علت دارا بودن نشاسته، پروتئین و خواص نانوایی خوب نسبت به سایر غلات ارجحیت دارد (۲). سختی دانه مهم‌ترین پارامتر کیفی گندم نان است که بر آرد کردن، و پخت و کیفیت فرآورده نهایی تأثیر دارد و بر این اساس گندم‌های هگزاپلوئید را به گروه‌های سخت و نرم تقسیم می‌کنند (۲۳). در اندوسپرم گندم نرم، گرانول‌های نشاسته اتصال ضعیفی با شبکه(Matrix) پروتئینی محاط‌کننده دارند، دانه به‌راحتی آسیاب می‌شود و آردی با بافت نرم و نسبت بالای گرانول‌های تخریب نشده نشاسته تولید می‌کند. درعوض در گندم سخت پیوستگی

۱. به ترتیب کارشناس ارشد، دانشیاران و کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: fshahria@yahoo.com.au

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-23]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.54.1]

بیشتری بین گرانول‌های نشاسته و شبکه پروتئین وجود دارد، انرژی بیشتری برای آسیاب کردن آن نیاز است و آردی با بافت زبر و نسبت بالاتری از گرانول‌های تخریب شده نشاسته تولید می‌نماید (۴). گندم سخت به‌خاطر قدرت جذب آب بیشتری که نشاسته تخریب شده دارد برای پخت نان ترجیح داده می‌شود. در صورتی که گندم نرم که آرد آن قدرت جذب آب کمتری دارد برای تولید کیک و کلوچه مناسب است (۱۹). سختی دانه به‌وسیله مکان ژنی سختی (*Ha*) که روی بازوی کوتاه کروموزوم 5D قرار دارد، کنترل می‌شود(۳). این مکان ژنی دربرگیرنده دو ژن کاملاً پیوسته پوروایندولین *a* (*Pina*) و پوروایندولین *b* (*Pinb*) می‌باشد (۲۳). ژن‌های پوروایندولین *a* و *b* کد کننده دو پلی‌پپتید هستند که باهم بخش عمده ترکیبی به نام فریابیلین(Friabilin) را تشکیل می‌دهند (۱۰ و ۱۷). مقدار فریابیلین روی سطح نشاسته آب‌شویی شده گندم نرم زیاد، ولی روی سطح نشاسته آب‌شویی شده گندم سخت ناچیز است و روی سطح نشاسته آب‌شویی شده گندم دوروم وجود ندارد (۱۷). نرمی دانه با مقدار کمّی این ترکیب هم‌بستگی بالایی دارد و با افزایش مقدار این ترکیب روی سطح نشاسته نرمی دانه افزایش می‌یابد (۱۴). فریابیلین به‌عنوان یک پروتئین غیرچسبنده بین گرانول نشاسته و شبکه پروتئین، اثر می‌کند، بنابراین دو ترکیب به‌راحتی از هم جدا می‌شوند و این منجر به نرمی بیشتر می‌گردد (۲۸).

پوروایندولین‌ها پروتئین‌های غنی از سیستئین با وزن مولکولی پایین (میانگین ۱۲/۸ *kDa*) و دارای یک حوزه(Domain) غنی از تریپتوفان هستند (۳) که از طریق این حوزه با فسفولیپیدها و لیپیدهای قطبی برهم‌کنش دارند (۲۰). پوروایندولین‌ها فقط در بذرهای در حال رشد گندم نان بیان می‌شوند و هیچ ژن همولوگ با آن در گندم دوروم وجود ندارد (۱۱). ژن‌های پوروایندولین *a* و *b* در حالت آلل وحشی (*Pina-D1a/Pinb-D1a*) منجر به ایجاد بافت دانه نرم می‌شوند و سختی دانه نتیجه جهش در هر یک از این دو ژن است. در گندم دوروم که فاقد هر دو ژن پوروایندولین *a* و *b* است، بافت دانه خیلی سخت می‌باشد (۲۳). مشخصات جهش‌های شناخته شده ژن‌های پوروایندولین *a* و *b* در مقاله چن و همکاران (۶) آورده شده است. آلل‌های *Pina-D1b* و *Pinb-D1b* رایج‌ترین آلل‌ها در سراسر دنیا هستند (۶، ۷، ۱۸، ۱۹، ۲۲ و ۲۵). آلل‌های *Pinb-D1c* و *Pinb-D1d* بیشتر در اروپای شرقی یافت می‌شوند (۱۸) و آلل *Pinb-D1e* در گندم‌های آمریکای شمالی و منطقه یانان چین مشاهده شده است (۷ و ۲۲). آلل‌های جهش‌یافته شناخته شده سختی دانه، همگی تغییرات چشمگیری را در بافت اندوسپرم در مقایسه با آلل‌های وحشی ایجاد می‌کنند، ولی گندم‌های حامل آلل‌های مختلف جهش‌یافته ممکن است تفاوت‌های اندکی در درجه سختی داشته باشند. این تفاوت آللی حتی در کیفیت نان و عملکرد نان نیز اثر دارد. به‌طور مثال گندم‌های حامل آلل *Pinb-D1b* کیفیت آرد و نان بهتری نسبت به گندم‌های حامل آلل *Pina-D1b* دارند (۱۶ و ۲۱).

با توجه به اهمیت ژن‌های پوروایندولین در کیفیت نان و براساس این‌که تاکنون مطالعه‌ای دراین خصوص در گندم‌های ایران انجام نشده است، این تحقیق به‌منظور شناخت وضعیت آلل‌های مهم این ژن‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق از ۱۵۳ ژنوتیپ گندم هگزاپلوئید شامل ۶۱ رقم تجاری گندم نان و ۹۲ توده بومی(Landrace) خالص که از بانک ژن بخش غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تأمین شد، استفاده گردید.

سنجش سختی بذر

ارزش سختی بذرها به‌وسیله دستگاه سیستم خصوصیات تک دانه((Single kernel characterization system (SKCS) مدل ۴۱۰۰ از خرد کردن ۵۰ بذر سالم از هر نمونه اندازه‌گیری شد. علاوه بر میانگین ارزش سختی، گروه‌بندی نمونه‌ها، میانگین میزان رطوبت دانه، میانگین وزن دانه و توزیع ارزش سختی

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-23]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.54.1]

درون هر نمونه نیز توسط این دستگاه به‌دست آمد.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

استخراج DNA از گیاهچه‌ها در مرحله دو تا سه برگی با استفاده از روش CTAB سقایی و معروف (۲۷) با اندکی تغییر انجام شد. کمیّت و کیفیت DNA به‌دست آمده از طریق اسپکتوفتومتر تعیین گردید.

از آغازگرهای توصیف شده توسط گااوتیر و همکاران (۱۱) برای تکثیر توالی ژن‌های *Pina* و *Pinb* و از آغازگرهای توصیف شده توسط گیروکس و موریس (۱۴ و ۱۵) برای شناسایی آلل *Pinb-D1b* استفاده شد. اطلاعات مربوط به آغازگرها در جدول ۱ آمده است.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biometra (T gradient) به‌صورت Touch Down در حجم ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر، بافر واکنش، ۱/۵ میلی مولار MgCl2، ۰/۲ میلی مولار dNTPs و ۱ واحد DNA Taqپلیمراز (سیناژن) و به تعداد ۳۵ چرخه انجام گردید. برنامه چرخه حرارتی به‌صورت واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴°C به مدت ۲ دقیقه، واسرشت‌سازی در ۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگر در ۵°C بالاتر از دمای اتصال واقعی آغازگر به مدت ۱ دقیقه در ۱۰ چرخه اول با ۰/۵°C کاهش دما در هر چرخه، اتصال آغازگر در دمای اتصال واقعی به مدت ۱ دقیقه در ۲۵ چرخه، بسط در ۷۲°C به مدت ۱ دقیقه، بسط نهایی در ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه تعریف گردید.

هضم آنزیمی

به منظور تشخیص آلل‌های *Pinb-D1e* و *Pinb-D1c* از تکنیک توالی‌های چند شکل حاصل از برش فرآورده تکثیریافته (Cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS)) استفاده شد، بدین صورت که برای تشخیص آلل *Pinb-D1c* از آنزیم *PvuII* و برای تشخیص آلل *Pinb-D1e* از آنزیم *MvaI* برای هضم محصول *PCR* ژن *Pinb* استفاده گردید. واکنش هضم به طور مجزا برای هر آنزیم در تیوب‌های جداگانه در حجم ۲۰ میکرولیتر متشکل از ۲ واحد آنزیمی، ۱/۵ میکرولیتر بافر مناسب، ۱۰ میکرولیتر محصول *PCR* ژن *Pinb*، به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷°*C* انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نمونه‌های فاقد تکثیر با آغازگرهای اختصاصی *Pina* و دارای تکثیر به وسیله آغازگرهای اختصاصی *Pinb* به‌عنوان آلل *Pina-D1b* (*Pina null*) و نمونه‌های دارای تکثیر با آغازگرهای *Pinb-D1b* و فاقد تکثیر با آغازگرهای *No Pinb-D1b* به‌عنوان آلل *Pinb-D1b* تعیین گردید (۱۹). تجزیه هم‌بستگی (پارشیال) بین داده‌ها به‌وسیله نرم افزار *JMP4* انجام گرفت و تفاوت ارزش سختی آلل‌های *Pina-D1b* و *Pinb-D1b* با استفاده از آزمون *t* سنجیده شد.

نتایج و بحث

براساس توزیع ارزش سختی داخل هر نمونه، نمونه‌ها در سه گروه سخت، مخلوط (مخلوطی از ژنوتیپ‌های سخت و نرم) و نرم قرار گرفتند. از ۶۱ گندم تجاری ۴۰ نمونه در گروه سخت، ۱۲ نمونه در گروه مخلوط و ۹ نمونه در گروه نرم و از ۹۲ گندم توده بومی ۵۴ نمونه در گروه سخت، ۱۲ نمونه در گروه مخلوط و ۲۶ نمونه در گروه نرم قرار گرفتند. بین وزن دانه و ارزش سختی، در کلاس نرم و سخت، هم‌بستگی منفی و معنی‌داری (به ترتیب ۰/۳۴- و۰/۲۸-، ۰/۰۵ = α)) به‌دست آمد. نتایج به‌دست آمده با یافته‌های قبلی گازا و همکاران مطابقت داشت، به طوری که آنها وزن دانه را به عنوان عاملی مؤثر بر روی سنجش سختی بافت دانه ذکر کردند (۱۳).

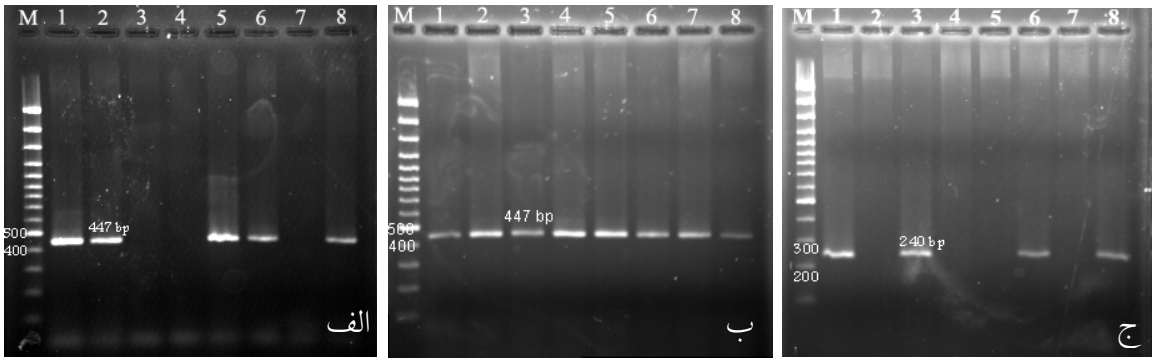
نمونه‌هایی از الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با آغازگرهای اختصاصی در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس تجزیه و تحلیل الگوی به‌دست آمده در گروه گندم‌های تجاری سخت، ۱۸ نمونه حامل آلل *Pina-D1b* و

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-23]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.54.1]

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

مکان ژنی	توالی آغازگرها (´۳→´۵)		دمای اتصال (°C)	طول قطعه تکثیری (bp)
	آغازگر رفت	آغازگر برگشت		
Pinb	ATG AAG ACC TTA TTC CTC CTA	TCA CCA GTA ATA GCC ACT AGG GAA	۵۸	۴۴۷
Pina	ATG AAG GCC CTC TTC CTCA	TCA CCA GTA ATA GCC AAT AGTG	۵۸	۴۴۷
Pinb-D1b	ATG AAG ACC TTA TTC CTC CTA	CTC ATG CTC ACA GCC GCT	۵۹	۲۴۰
No Pinb-D1b	ATG AAG ACC TTA TTC CTC CTA	CTC ATG CTC ACA GCC GCC	۵۹	۲۴۰



شکل ۱. الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز؛ الف و ب: بترتیب الکتروفورز محصولات PCR باآغازگرهای اختصاصی Pina و Pinb؛ (شماره: ۱- مغان(۱)، ۲- روشن، ۳- رسول، ۴- مارون، ۵- کراس شاهی، ۶- کرج(۱)، ۷- فلات، ۸- اینیا) ج: شماره‌های فرد الکتروفورز محصولات PCR باآغازگر اختصاصیPinb-D1b و شماره‌های زوج الکتروفورز محصولات PCR با آغازگر اختصاصی No Pinb-D1b برای همان ارقام (شماره: ۱ و۲- مغان(۱)، ۳ و۴- بزوستایا، ۵ و۶- زرین، ۷و۸- تجن).
M: **نشانگر اندازه** DNA (۱۰۰bp DNA Ladder Plus).

۵ نمونه حامل آلل *Pinb-D1b* بودند (جدول ۲). از گندم رقم اترک هیچ قطعه تکثیری برای هیچ‌یک از دو ژن به‌دست نیامد. در گندم‌های سخت توده بومی فقط دو توده حامل آلل *Pinb-D1b* بودند و هیچ‌یک حامل آلل *Pina-D1b* نبودند و ۶ نمونه از گندم‌ها هیچ قطعه تکثیری برای هیچ‌یک از دو ژن نشان ندادند.

الکتروفورز واکنش‌های هضم آنزیمی به منظور تشخیص آلل‌های *Pinb-D1e* و *Pinb-D1c* در شکل ۲ نشان داده شده‌اند. آلل *Pinb-D1e* در اثر جهشی که باعث تبدیل کدون *TGG* به *TGA* شده، به‌وجود آمده است (۲۵). این جهش باعث شده مکان برشی آنزیم *MvaI* که در آلل نوع وحشی وجود داشته از بین برود. در حضور این آنزیم در قطعه تکثیری ۴۴۷ جفت بازی ژن *Pinb* حامل این جهش برشی اتفاق نمی‌افتد، در صورتی که در آلل فاقد این جهش، آنزیم مذکور تولید دو قطعه به طول‌های ۲۴۶ و ۲۰۱ جفت باز می‌نماید. آلل *Pinb-D1c* ناشی از جهشی است که طی آن کدون *CTG* به *CCG* تبدیل شده است (۲۵). این جهش باعث شده است که مکان برشی آنزیم *PvuII* که در آلل نوع وحشی وجود داشته از بین برود. در حضور این آنزیم در قطعه تکثیری ۴۴۷ جفت بازی ژن *Pinb* حامل این جهش برشی اتفاق نمی‌افتد، در صورتی‌که در آلل فاقد این جهش، آنزیم مذکور تولید دو قطعه به طول‌های ۲۶۴ و ۱۸۳ جفت باز می‌نماید. هضم‌های آنزیمی که روی فرآورده *PCR* ژن *Pinb*

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-23]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.54.1]

جدول ۲. تنوع آللی شناسایی شده در ارقام تجاری سخت ایران

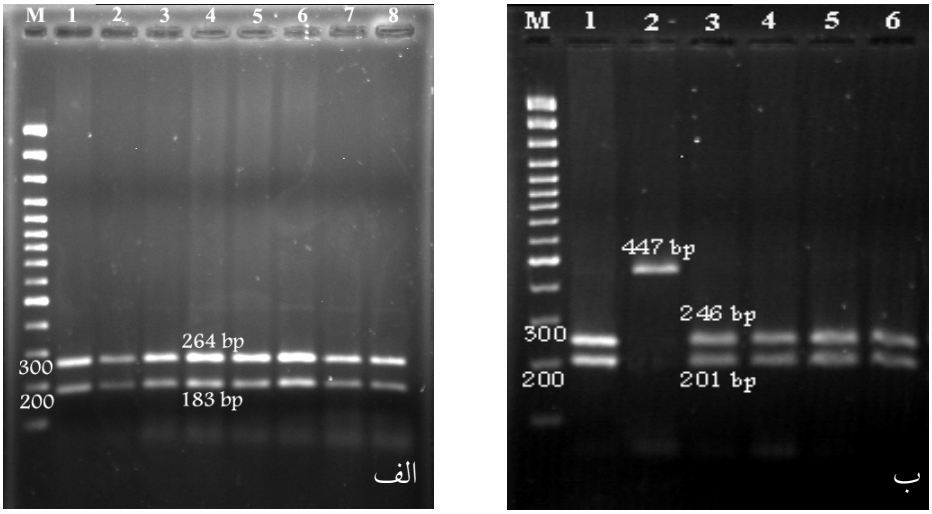
رقم	فنوتیپ	ارزش سختی SKCS	نوع آلل سختی
خزر (۱)	سخت	۷۵/۶	Pina-D1b
رسول	سخت	۶۹/۲	Pina-D1b
مارون	سخت	۶۷/۷	Pina-D1b
فلات	سخت	۷۸/۲	Pina-D1b
طوس	سخت	۷۵/۴	Pina-D1b
وی‌ناک	سخت	۷۰/۶	Pina-D1b
پیشتاز	سخت	۷۳/۴	Pina-D1b
کرج (۳)	سخت	۷۷/۱	Pina-D1b
دز	سخت	۷۲/۱	Pina-D1b
الوند	سخت	۷۰/۲	Pina-D1b
تجن	سخت	۶۲/۵	Pina-D1b
کراس البرز	سخت	۶۷	Pina-D1b
شیرودی	سخت	۷۲/۸	Pina-D1b
مرودشت	سخت	۸۲/۲	Pina-D1b
سرخ تخم	سخت	۷۴/۱	Pina-D1b
استورک	سخت	۷۷/۲	Pina-D1b
چمران	سخت	۶۷	Pina-D1b
چناب	سخت	۶۵/۹	Pina-D1b
مغان (۱)	سخت	۶۸	Pinb-D1b
داراب (۲)	سخت	۶۱/۵	Pinb-D1b
گاسکوژن	سخت	۶۲/۴	Pinb-D1b
بزوستایا	سخت	۶۱/۳	Pinb-D1b
اینیاء	سخت	۶۲/۲	Pinb-D1b
کویر	سخت	۷۶	Pinb-D1e

انجام شده بود تنها رقم کویر (شکل ۲ب) را حامل آلل *Pinb-D1e* نشان داد و آلل *Pinb-D1c* در هیچ نمونه‌ای مشاهده نشد.

این تحقیق تنوع آللی ژن‌های پوروایندولین را در بیش از نیمی از گندم‌های سخت تجاری مشخص نمود (نام ارقامی که نوع آلل آنها مشخص شده درجدول۲ آمده است) و نشان داد که آلل *Pina-D1b* بیشترین فراوانی را (۴۵ درصد) در گندم‌های سخت تجاری دارد. اکثر ارقام تجاری حامل آلل *Pina-D1b* ارقامی وارداتی و مربوط به پروژه‌های اصلاحی سیمیت(CIMMYT) می‌باشند. چنانچه لیلمو و همکاران گزارش کردند خزانه ژنی سیمیت بخشنده آلل *Pina-D1b* به برنامه اصلاحی اکثر نقاط دنیاست (۱۹). ارقام تجاری حامل آلل *Pinb-D1b* نیز از ارقام وارداتی هستند که به خزانه ژنی وارد شدند. اما این روش‌ها نتوانستد تنوع آللی ژن‌های پوروایندولین موجود در گندم‌های سخت توده بومی را مشخص نمایند و تنها

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-23]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.54.1]



شکل ۲. الکتروفورز واکنشهای هضم آنزیمی؛ الف: الکتروفورز واکنش هضم بر روی محصول PCR ژن Pinb توسط آنزیم PvuII به‌منظور تشخیص آلل Pinb-D1c، انجام واکنش هضم در تمام نمونه‌ها و تولید دو قطعه به طولهای ۲۶۴ و ۱۸۳ جفت باز نشان دهنده فقدان آلل Pinb-D1c در آنهاست (۱- گلستان، ۲- استار، ۳- کرج(۲)، ۴- چمران، ۵- اینیا، ۶- کویر، ۷- رشید، ۸- مارون). ب: الکتروفورز واکنش هضم بر روی محصول PCR ژن Pinb توسط آنزیم MvaI به منظور تشخیص آلل Pinb-D1e، فقدان هضم به‌وسیله آنزیم در نمونه شماره ۲ نشان دهنده وجود آلل Pinb-D1e می‌باشد (۱- پیشتاز، ۲- کویر، ۳- چمران، ۴- رسول، ۵- آزادی، ۶- کرج(۲)). M : نشانگر اندازه DNA (DNA Ladder Plus ۱۰۰bp).

نشان دادند که دو لاین حامل آلل *Pinb-D1b* هستند. آلل *Pina-D1b* که در خزانه ژنی اکثر کشورها مانند چین، استرالیا، آمریکا و شمال اروپا فراوانی بالایی داشته (۶، ۷، ۱۸ و ۱۹) در این گندم‌ها دیده نشد. هم‌چنین اکثر ارقام تجاری سختی که آلل‌های مورد مطالعه در این تحقیق را نداشتند، متعلق به خزانه ژنی بومی کشور می‌باشند. به‌نظر می‌رسد، با توجه به این‌که کشور ایران یکی از مراکز تنوع گندم است دارای ساختار آلل متفاوتی برای ژن‌های پوروایندولین باشد. چنانچه اظهار گردیده، ظهور جهش‌ها به‌طور مستقل از هم رخ می‌دهد و حتی برخی را می‌توان در مناطق جغرافیایی خاصی دنبال و ردیابی کرد (۱۹). همان طور که انتظار می‌رفت هیچ یک از گندم‌هایی که در دسته نرم طبقه‌بندی شده بودند، دارای آلل‌های *Pina-D1b*، *Pinb-D1b*، *Pinb-D1c* و *Pinb-D1e* نبودند.

اختلاف بسیار معنی‌داری بین ارزش سختی دانه گندم‌های سخت حامل آلل *Pina-D1b* (میانگین سختی ۷۲/۱۲) با گندم‌های سخت حامل آلل *Pinb-D1b* (میانگین سختی ۷۲/۱۲) به‌دست آمد ($P\leq$ ۰/۰۰۰۵)، که نشان دهنده سختی بیشتر گندم‌های حامل آلل *Pina-D1b* است. شاخص سختی بالاتر گندم‌های حامل آلل *Pina-D1b* نسبت به *Pinb-D1b* با یافته‌های مطالعات قبلی (۸، ۱۶، ۱۹ و ۲۴) مطابقت داشت. چندین مطالعه نشان داده است که مقدار پروتئین پوروایندولین *b* متصل به گرانول‌های نشاسته در غیاب پروتئین پوروایندولین *a* به شدت کاهش می‌یابد (۵، ۸، ۱۲ و ۲۹). بنابراین هنگامی که آلل *Pina-D1b* است، چون پروتئین پوروایندولین *a* تولید نمی‌شود، تقریباً هیچ پیوستگی بین نشاسته و پوروایندولین وجود ندارد. در صورتی‌که در لاین‌هایی با آلل *Pinb-D1b* که پروتئین پوروایندولین *a* تولید می‌شود، هنوز پیوستگی قابل توجه است و بافت اندوسپرم نرم‌تر می‌شود (۵ و ۱۹).

گندم‌هایی که هیچ الگوی باندی برای هیچ‌یک از دو ژن نشان ندادند نیز ارزش سختی دانه بسیار معنی‌دار بالاتری (میانگین ۷۹/۰۷) نسبت به گندم‌های حامل آلل *Pina-D1b* (میانگین ۷۲/۱۲) نشان دادند ($P\leq$ ۰/۰۰۰۱). این امکان وجود

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-23]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.54.1]

دارد که به علت قرارگیری مکان ژنی *Ha* در انتهای بازوی کوچک کروموزوم 5D (۳۰)، قسمتی از این ناحیه کروموزومی در این لاین‌ها حذف شده یا این‌که حذف‌های بزرگ‌تری که در برگیرنده کل کروموزوم هستند، رخ داده باشد. برای فهم این موضوع نیاز به مطالعات دقیق سیتوژنتیکی است. میانگین شاخص سختی بالاتر این لاین‌ها نیز دلیلی بر نبود پوروایندولین‌ها در این لاین‌ها می‌باشد؛ چنانچه حذف هر دو پوروایندولین در گندم‌های هگزاپلویید می‌تواند حالتی مشابه گندم دوروم ایجاد کند (۲۶).

به طور کلی این پژوهش نشان داد که آلل *Pina-D1b* فراوان‌ترین آلل پوروایندولین در گندم‌های تجاری ایران می‌باشد ولی در توده بومی مطالعه شده وجود ندارد. برای شناخت تنوع آللی موجود در توده بومی کشور نیاز به مطالعات توالی‌یابی ژن‌های پوروایندولین می‌باشد. آلل *Pinb-D1b* که دارای کیفیت پخت نان بالایی است، در گندم‌های تجاری فراوانی کمی دارد.

در پایان می‌توان عنوان نمود که با شناخت نوع آلل سختی دانه در هر رقم یا لاین گندم، می‌توان در برنامه‌های اصلاحی گندم همراه سایر خصوصیات، در مورد اصلاح این خصوصیت نیز بدرستی اقدام نمود. هم‌چنین از روش‌های استفاده شده در این مطالعه می‌توان به‌عنوان یک نشانگر سختی دانه جهت انتخاب زود هنگام در نسل‌های تفکیک بعد از تلاقی استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

۱. ایران نژاد، ح. و ن. شهبازیان. ۱۳۸۴. *زراعت غلات (جلد اول، گندم)*. انتشارات کارنو، تهران.

۲. تاجبخش، م. و ع.ا. پورمیرزا. ۱۳۸۲. *زراعت غلات*. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه، آذربایجان غربی.

3. Blochet, J.E., C. Chevalier, E. Forest, E. Pebay-Peyroula, M.F. Gautier, P. Joudrier, M. Pezolet and D. Marion. 1993. Complete amino acid sequence of puroindoline, a new basic and cystine-rich protein with a unique tryptophan-rich domain, isolated from wheat endosperm by Triton X-114 phase partitioning. FEBS Lett. 329: 336-340.
4. Brennan, C.S., B.D. Sulaiman, J.D. Schofield and J.G. Vaughan. 1993. The immunolocation of friabilin and its association with endosperm texture. Asp. Appl Biol. 36: 69-73.
5. Capparelli, R., G. Borriello, M.J. Giroux and M.G. Amoroso. 2003. Puroindoline A-gene expression is involved in association of puroindolines to starch. Theor. Appl Genet. 107: 1463-1468.
6. Chen, F., Z.H. He, X.C. Xia, L.Q .Xia, X.Y. Zhang, M. Lillemo and C.F. Morris. 2006. Molecular and biochemical characterization of puroindoline a and b alleles in Chinese landraces and historical cultivars. Theor. Appl. Genet. 112: 400-409.
7. Chen, F., Y. Yu, X. Xia and Z. He. 2007. Prevalence of a novel puroindoline b allele in Yunnan endemic wheats (*Triticum aestivum* ssp. yunnanense King). Euphytica 156: 39-46.
8. Corona, V., L., Gazza, G. Boggini and N.E. Pogna. 2001. Variation in friabilin composition as determined by A-PAGE fractionation and PCR amplification, and its relationship to grain hardness in bread wheat. J. Cereal Sci. 34: 243-250.
9. Curtis, B.C. 2002. Wheat in the World. published online at: http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4011E/y4011e04.htm
10. Darlington, H.F., L. Tesci, N. Harris, D. Griggs, I. Cantrell and P.R. Shewry. 2000. Starch granule associated proteins in barley and wheat. J. Cereal Sci. 32: 21-29.
11. Gautier, M.F., M.E. Aleman, A. Guirao, D. Marion and P. Joudrier. 1994. Triticum aestivum puroindolines, two basic cysteine-rich seed proteins: cDNA sequence analysis and developmental gene expression. Plant Mol. Biol. 25: 43-57.
12. Gazza, L., F. Nocente, P.K.W. Ng and N.E. Pogna. 2005. Genetic and biochemical analysis of common wheat cultivars lacking puroindoline a. Theor. Appl Genet. 110: 470-478.
13. Gazza, L., F. Taddei, M. Corbellini, P. Cacciatori and N.E. Pogna. 2008. Genetic and environmental factors affecting grain texture in common wheat. J. Cereal Sci. 47: 52-58.
14. Giroux, M.J. and C.F. Morris. 1997. A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch-surface friabilin. Theor. Appl Genet. 95: 857-864.
15. Giroux, M.J. and C.F. Morris. 1998. Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-23]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.54.1]

components puroindoline a and b. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 6262-6266.
16. Giroux, M.J., L. Talbert, D.K. Habernicht, S. Lanning, A. Hemphill and J.M. Martin. 2000. Association of puroindoline sequence type and grain hardness in hard red spring wheat. Crop Sci. 40: 370-374.
17. Greenwell, P. and J.D. Schofield. 1986. A starch granule protein associated with endosperm softness in wheat. Cereal Chem. 63: 379-380.
18. Lillemo, M. and C.F. Morris. 2000. A leucine to proline mutation in puroindoline b is frequently present in hard wheats from Northern Europe. Theor. Appl Genet. 100: 1100-1107.
19. Lillemo, M., F. Chen, X. Xia, M. William, R.J. Peňa, R. Trethowan and Z. He. 2006. Puroindoline grain hardness alleles in CIMMYT bread wheat germplasm. J. Cereal Sci. 44: 86-92.
20. Marion, D., B. Bakan and K. Elmorjani 2007. Plant lipid binding proteins: Properties and applications. Biotechnol. Adv. 25: 195-197.
21. Martin, J.M., R.C. Frohberg, C.F. Morris, L.E. Talbert and M.J. Giroux. 2001. Milling and bread baking traits associated with puroindoline sequence type in hard red spring wheat. Crop Sci. 41: 228-234.
22. Morris, C.F., M. Lillemo, M.C. Simeone, M.J. Giroux, S.L. Babb and K.K. Kidwell. 2001. Prevalence of puroindoline grain hardness genotypes among historically significant North American spring and winter wheats. Crop Sci. 41: 218-228.
23. Morris, C.F. 2002. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. Plant Mol. Biol. 48: 633-647.
24. Morris, C.F. and A.N. Massa. 2003. Puroindoline genotype of the U.S. national institute of standards and technology reference material 8441, wheat hardness. Cereal Chem. 80: 674-678.
25. Pickering, P.A. and M. Bhave. 2007. Comprehensive analysis of Australian hard wheat cultivars shows limited puroindoline allele diversity Plant Sci. 172: 371-379.
26. Ram, S., N. Jain, J. Shoran and R. Singh. 2005. New frame shift mutation in puroindoline b in Indian wheat cultivars Hyb65 and NI5439. J. Plant Biochem. Biotechnol. 14: 45-48.
27. Saghai-Maroof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen and R.W. Allad. 1984. DNA spacerlength polymorphism in barley: Mendelian inheritance, Chromosomal location and Population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 8014-8018.
28. Turnbull, K.M. and S. Rahman. 2002. Endosperm texture in wheat. J. Cereal Sci. 36: 327-337.
29. Turnbull, K.M., D. Marion, T. Gaborit, R. Appels and S. Rahman. 2003. Early expression of grain hardness in the developing wheat endosperm. Planta 216: 699-706.
30. Turner, M., Y. Mukai, P. Leroy, B. Charef, R. Appels and S. Rahman. 1999. The Ha locus of wheat: identification of a polymorphic region for tracing grain hardness in crosses. Genome 42: 1242-1250.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-23]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.54.1]