دانشکده کشاورزي

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته

بیوتکنولوژي کشاورزي

عنوان

جداسازی راه اندازهای اختصاصی ژن‌های زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) در گندم

استاد راهنما

دکتر بهرام باغبان

استاد مشاور

دکتر اشرف قلیزاده

پژوهشگر

مهدیه عیاری

شهریور ۱۳۹۰

نام خانوادگی: عیاری مارالانی
نام: مهدیه

عنوان پایان نامه: جداسازی راه‌اندازهای اختصاصی ژن‌های زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) در گندم

استاد راهنما: دکتر بهرام باغبان کهنه روز
استاد مشاور: دکتر اشرف قلیزاده

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته:** بیوتکنولوژی کشاورزی
دانشگاه: تبریز
دانشکده: کشاورزی **تاریخ فارغ التحصیلی:**
تعداد صفحه: ۷۹

کلید واژه‌ها: راه‌انداز، راه‌انداز اختصاصی بذر، گلوتن، گلوتنین، گندم نان، گندم دوروم

چکیده:
آندوسپرم غلات دارای اهمیت اقتصادی و تغذیه‌ای فراوانی بوده و منبع انرژی و پروتئین برای جوامع انسانی و حیوانات اهلی به شمار می‌رود. استفاده از تغییر ژنتیکی در جهت بهبود ساختار و ترکیبات آندوسپرم، نیازمند راه-اندازهای ژنی مناسب برای بیان تراژن‌ها به میزان و الگوی مطلوب می‌باشد. از این رو در این پژوهش جداسازی راه-اندازهای اختصاصی ژن‌های زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) از گندم نان و دوروم مورد توجه قرار گرفت. با طراحی آغازگرهای اختصاصی و بکارگیری آن‌ها بر روی DNA ژنومی، طی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) قطعات راه‌انداز به طول ۹۵۴ و ۵۴۵ جفت باز از گندم نان رقم نیکنژاد و قطعات راه‌انداز به طول ۹۶۱ و ۵۴۸ جفت باز از گندم دوروم رقم دنا تکثیر یافت. سپس این قطعات به حامل *p*GEM-T انتقال یافته و کلنی‌های سفید (تست آبی-سفید)، جهت تایید حضور قطعه، از طریق کلنی PCR و هضم آنزیمی تست شدند که هر دو روش وجود قطعه را ثابت نمود. پس از توالی‌یابی و تایید مولکولی قطعات، قطعه راه‌انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان، به حامل بیان ژن گیاهی انتقال داده شده و با استفاده از روش آنزیمی،

حضور قطعه راه‌انداز در پلاسمید بیانی تایید گردید. بررسی توالی‌های همسانه‌سازی شده، با نرم‌افزارهای BLAST و ClustalW، شباهت بسیار این توالی را با سایر راه‌اندازهای ژن‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای شناخته شده آشکار نمود. نتایج تجزیه‌های فیلوژنتیکی نشان داد قطعات ۹۵۴ و ۵۴۵ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان و راه‌انداز ۹۶۱ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم متعلق به گروه ژنی Glu-B1-1 و راه‌انداز ۵۴۸ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم جزء ژن‌های Glu-A1-1 می‌باشند. استفاده از راه‌اندازهایی که فقط در برخی از بافت‌ها عمل می‌کنند، می‌تواند در رسیدن به اهداف اختصاصی از جمله تولید پروتئین‌های نوترکیب در بذر ویا بافت‌های ویژه بذری، انجام تحقیقات پایه و اصلاح کمی و کیفی گندم بسیار سودمند باشد.

فهرست مطالب

صفحه

مقدمه.....
.....
.....
.....۱

۱- بررسی منابع

۱-۱- اهمیت گندم.....
.....
.....۳ ۱-۲- پیدایش گندم نان و دوروم.....
.....
.....۴ ۱-۳- ساختمان دانه گندم.....
.....
.....۵ ۱-۴- ترکیبات شیمیایی دانه

گندم.....
.....
.....۵ ۱- ۵- پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه
گندم.....
.....
۶.. ۱- ۵- ۱-
گلوتن.....
.....
.....۷ ۱- ۵- ۲- ژن-
های رمزکننده گلوتن در
گندم.....
.....۸ ۱- ۵-
۳- بیان ژن‌های رمزکننده گلوتن در گندم و بسته‌بندی
آن-
ها.....
.....۹ ۱- ۶- تنظیم بیان ژن‌های پروتئین‌های ذخیره
ای در
گندم.....
.....۱۰ ۱- ۷- راه-
اندازها.....
.....
.....۱۱ ۱- ۷-
۱- روش‌های جداسازی و همسانه‌سازی راه-
اندازها.....
.....۱۳ ۱- ۷- ۲- راه‌اندازهای
اختصاصی
بذر.....
.....۱۴
۱- ۷- ۳- راه‌اندازهای ژن‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای

گندم.....
.....۱۵ ۱- ۸- مهندسی ژنتیک در جهت بهبود ساختار آندوسپرم دانه گندم.....
...۱۹ ۱- ۸- ۱- تراریختگی با استفاده از راه-اندازهای ژن‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر.....۲۰

۲- مواد و روش‌ها

۲- ۱- مواد گیاهی.....
.....
.....۲۳ ۲- ۲- استخراج DNA ژنومی.....
.....
.....۲۴ ۲- ۳- مطالعات بیوانفورماتیک و طراحی آغازگرهای اختصاصی.....
.....۲۶ ۲- ۴- تکثیر قطعه راه‌انداز به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR).....
.۲۷ ۲- ۵- استخراج قطعه راه‌انداز از ژل آگارز.....
.....۲۸
۲- ۶- اتصال قطعه راه‌انداز به حامل.....
.....
.....۳۰ ۲- ۷- تهیه سلول‌های مستعد باکتریایی.....
.....
.....۳۱ ۲- ۸- تراریزش باکتری‌های مستعد.....
.....
.....۳۳ ۲- ۸- ۱- تهیه محیط کشتLB-آگار جهت

گزینش باکتری‌های تراریخته ۳۴
۲-۹- استخراج پلاسمید .....
..... ۳۴
۲-۱۰- هضم آنزیمی با استفاده از آنزیم‌های برشی .....
..... ۳۶
۲-۱۱- تایید کلنی‌های تراریخته .....
..... ۳۷
۲-۱۲- توالی‌یابی قطعه راه‌انداز همسانه‌سازی شده .....
..... ۳۷
۲-۱۳- همسانه‌سازی قطعه راه‌انداز در حامل بیان ژن گیاهی .....
..... ۳۸

۳- نتایج و بحث

۳-۱- استخراج DNA ژنومی .....
..... ۴۰
۳-۲- تکثیر قطعه راه‌انداز ژن HMW-GS به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز .....
۴۱
۳-۳- تراریزش باکتری‌های مستعد .....
..... ۴۲
۳-۴- تایید کلنی‌های تراریخته .....
..... ۴۳
۳-۵- توالی‌یابی قطعات راه‌انداز همسانه‌سازی شده .....
..... ۴۶
۳-۶- آنالیز توالی‌های همسانه‌سازی شده .....

۴۸.....
۳- ۶- ۱- شناسایی موتیف-
ها.....
.....
.....۴۸ ۳- ۶- ۲- نتایج BLAST، ClustalW و
همردیفی راه-
اندازها.....
.....۵۲ ۳- ۷- همسانه‌سازی قطعه راه‌انداز در
حامل بیان ژن
گیاهی.....
.....۶۴ ۳- ۸- نتایج مربوط به
مطالعات
فیلوژنتیکی.....
.....
۶۶ ۳- ۹- نتیجه‌گیری و
پیشنهادات.....
.....
.....۷۲ ۳- ۹- ۱- نتیجه-
گیری.....
.....
.....۷۲ ۳- ۹- ۲-
پیشنهادات.....
.....
.....۷۲
منابع.....
.....
.....
.....۷٤
پیوست-
ها.....
.....
.....۸۰

فهرست شکل‌ها

صفحه

شکل ۱- آغازگرهای اختصاصی مستقیم و معکوس.....
..... شکل ۲- نقشه ۲۷.....
فیزیکی حامل *p*GEM-T.....
..... شکل ۳۰.....
۳- نقشه فیزیکی حامل *p*CAMBIA3301.....
..... شکل ۳۹.....
۴- الکتروفورز ژل آگارز DNA ژنومی.....
..... شکل ۴۰.....
۵- قطعات حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، به طول تقریبی ۱۰۰۰ و ۵۰۰ جفت باز از گندم دوروم رقم دنا و گندم نان رقم نیک-نژاد.....
..... شکل ۴۲.....
۶- رشد کلنی‌های آبی و سفید درحضور X-gal و IPTG.....
..... شکل ۴۳.....
۷- تایید کلنی‌های تراریخته، توسط PCR کلنی

.....
.....۴۴ شکل ۸- قطعات به دست آمده در روش هضم آنزیمی به طول حدود ۴۰۰۰ جفت باز برای راه-اندازهای ۱۰۰۰ جفت بازی، و قطعات به طول حدود ۳۵۰۰ جفت باز برای راه‌اندازهای ۵۰۰ جفت بازی از گندم نان و دوروم.....
.....
.....۴۵ شکل ۹- ابتدای کروماتوگرام راه-انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان.....۴۶ شکل ۱۰- ابتدای کروماتوگرام راه‌انداز ۵۴۵ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان.....۴۷ شکل ۱۱- ابتدای کروماتوگرام راه‌انداز ۹۶۱ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم.....۴۷ شکل ۱۲- ابتدای کروماتوگرام راه‌انداز ۵۴۸ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم.....۴۸ شکل ۱۳- توالی راه‌انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد.....۴۹ شکل ۱۴- توالی راه‌انداز ۵۴۵ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد.....۵۰ شکل ۱۵- توالی راه‌انداز ۵۴۸ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم رقم دنا.....۵۰ شکل ۱۶- توالی راه‌انداز ۹۶۱ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم رقم دنا.....۵۱
شکل ۱۷- همردیفی توالی راه‌انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد با توالی با شماره دسترسی
.....EU157184.1

.....
۵۷..... شکل ۱۸- همردیفی توالی راه‌انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد با توالی با شماره دسترسی AY848709.1.....
.....
۵۸..... شکل ۱۹- همردیفی توالی راه‌انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد با توالی با شماره دسترسی EU157184.1.....
.....
۵۹..... شکل ۲۰- همردیفی توالی راه‌انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد با توالی با شماره دسترسی AY494981.....
.....
۶۰..... شکل ۲۱- ClustalW راه‌اندازهای ۹۵۴ و ۵۴۵ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیک-نژاد (RFA و RFB) و راه‌انداز ۹۶۱ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم رقم دنا (DFA).....
.....
.....
۶۳... شکل ۲۲- هضم آنزیمی پلاسمید همسانه‌سازی حاوی راه‌انداز ۹۴۶ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد با آنزیم‌های برشی *Hind* III و *Nco* I.....
۶۴.. شکل ۲۳- هضم آنزیمی پلاسمید بیانی

*p*CAMBIA3301 با آنزیم‌های برشی *Hind* III و *Nco* I .....
.....
.....
۶۵ شکل ۲۴- هضم آنزیمی پلاسمید بیانی *p*CAMBIA3301 حاوی راه‌انداز ۹۴۶ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد با آنزیم‌های برشی *Hind* III و *Nco* I ۶۶
شکل ۲۵- درخت فیلوژنتیکی راه‌انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد....۶۷
شکل ۲۶- درخت فیلوژنتیکی راه‌انداز ۵۴۵ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد....۶۸
شکل ۲۷- درخت فیلوژنتیکی راه‌انداز ۹۶۱ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم رقم دنا.....۶۹
شکل ۲۸- درخت فیلوژنتیکی راه‌انداز ۵۴۸ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم رقم دنا.....۷۰

فهرست جداول

صفحه

جدول ۱- مشخصات ارقام نیکنژاد و دنا.....
.....۲۳
جدول ۲- مواد مورد استفاده در بافر استخراج DNA ژنومی
.....
.....۲۶ جدول ۳- مقادیر و غلظت‌های مواد استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.....۲۸ جدول ۴- مواد و غلظت‌های مورد استفاده در واکنش اتصال قطعه راه‌انداز به حامل *p*GEM-T....۳۱ جدول ۵- مواد و غلظت‌های مورد نیاز برای تهیه ml ۱۰محلولTSS.....
.۳۳ جدول ۶- ترکیب شیمیایی محلول‌های مورد استفاده در استخراج پلاسمید به روش Alkaline lysis.....
.....
.....
... ۳۵ جدول ۷- غلظت‌های مورد استفاده در واکنش هضم آنزیمی.....
.....۳۶ جدول ۸- جایگاه قرارگیری موتیف‌ها در توالی راه‌اندازهای همسانه‌سازی شده
.....۵۱ جدول ۹- BLAST توالی راه‌انداز ۹۵۴ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد.....۵۳ جدول ۱۰- BLAST توالی راه‌انداز ۵۴۵ جفت بازی جداسازی شده از گندم نان رقم نیکنژاد.....۵۴ جدول ۱۱- BLAST توالی راه‌انداز ۹۶۱ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم رقم دنا.....۵۵ جدول ۱۲- BLAST توالی راه‌انداز ۵۴۸ جفت بازی جداسازی شده از گندم دوروم رقم دنا.....۵۶ جدول ۱۳- تعداد جهش‌های نقطه‌ای در توالی راه‌اندازهای همسانه‌سازی شده.....۶۲

مقدمه

بنابر آمار و گزارشات رسمی FAO، برای تامین غذای جمعیت روز افزون دنیا در بیست و پنج سال آینده، عملکرد محصولات زراعی بایستی به میزان ۶۰ درصد افزایش پیدا کند، درحالی که منابع طبیعی و در پی آن منابع غذایی روز به روز محدودتر می‌شوند. به عقیده متخصصان علوم کشاورزی برای حل مشکل تامین غذا و حفظ سلامت محیط زیست، یکی از راهکارهای موثر بهره‌مندی از فن‌آوری‌های نوین از جمله بیوتکنولوژی است و آگاهان علم بیوتکنولوژی معتقدند که می‌توانند تولید غذا را تا ۲۵ درصد در کشورهای در حال توسعه افزایش داده و غذای سه میلیارد جمعیت اضافی را تامین نمایند. و بر همین اساس است که این علم به عنوان یکی از هفت علم برتر دنیا معرفی شده است (علوی، ۱۳۸۶). در این رهگذر غلات بعنوان بزرگترین تامین کننده کالری مورد نیاز بشر نقش بسزایی را عهده‌دار خواهد بود.

دانه‌های غلات شامل بافت‌های مختلفی می‌باشند و چنانچه استفاده از این دانه‌ها به عنوان یک کارخانه تولیدی مد نظر باشد، بیان تراژن‌ها در یک یا چند بافت خاص ضروری است. امروزه استفاده از بیوتکنولوژی در جهت ارتقاء کیفیت دانه غلات برای مصارف گوناگون، آن را بعنوان یک بیوراکتور، موضوع

تحقیق بسیاری از دانشمندان جهان قرار داده است (فورتادو و همکاران، ۲۰۰۹).

گندم منبع اصلی تامین انرژی و پروتئین در اکثر جوامع بشری است (لاماکچیا و همکاران، ۲۰۰۱). استفاده از آرد گندم در تهیه محصولات فرآوری شده مانند نان و ماکارونی، وابستگی شدیدی به کیفیت و کمیت پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر دارد (ویبو و همکاران، ۲۰۰۹). راه‌اندازهای ژن‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر از جمله راه‌اندازهای مخصوص اندام و بافت هستند که باعث بیان اختصاصی این ژن‌ها در بذر می‌گردند (تیاگی، ۲۰۰۱). استفاده از راه‌اندازهایی که فقط در برخی از بافت‌ها عمل می‌کنند، می‌تواند در رسیدن به اهداف اختصاصی بسیار سودمند باشد. از جمله کاربردهای راه‌اندازهای اختصاصی، بکارگیری آن-ها در کارهای اصلاحی و همچنین تولید پروتئین‌های نوترکیب در بافت‌های ویژه مانند بذر می‌باشد.

در تحقیق حاضر، با توجه به اهمیت گندم و نیاز به در دست داشتن راه‌اندازهایی که موجب بیان حداکثری تراژن‌ها در این گیاه شوند، برای اولین بار در کشور، اقدام به جداسازی راه‌اندازهای اختصاصی ژن‌های زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) از گندم نان و دوروم شده است. امید است این پژوهش، گامی هر چند ناچیز، در جهت رشد و ارتقای علمی کشور و نیز حل مشکلات جهانی بشر محسوب گردد.

۱- بررسی منابع

۱- ۱- اهمیت گندم

آندوسپرم غلات دارای اهمیت اقتصادی و تغذیه‌ای فراوانی بوده و منبع انرژی و پروتئین برای جوامع انسانی و حیوانات اهلی به شمار می‌رود (لاماکچیا و همکاران، ۲۰۰۱). در این میان گندم به عنوان یک محصول استراتژیک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. صرف نظر از انواع نان، از آرد گندم در تهیه فراورده‌های دیگری چون رشته، ماکارونی، انواع شیرینی، نان شیرمال، کلوچه، نشاسته و نظایر آن استفاده می‌شود (بهنیا، ۱۳۷۳). بقایای کاه گندم می‌تواند به عنوان سوخت، مواد برای ساختمان‌سازی و ماده‌ای برای تولید بستر گرم و راحت و یا ماده اولیه برای استفاده در کارهای دستی مثل بافتنی مورد توجه قرار گیرد (راشد محصل و همکاران، ۱۳۸۰). علاوه بر این، گندم نیز مانند جو در تغذیه حیوانات به کار می‌رود (بهنیا، ۱۳۷۳).

گندم مقام سوم تولید جهانی را با میزان تولید ۶۱۱/۱۰۱۶۶۴ میلیون تن در سال ۲۰۰۷ میلادی به خود اختصاص داده (FAO، ۲۰۰۸) و در ایران نیز بیشترین تولید را با مقدار ۱۳/۴۸۴۴۵۶ میلیون تن در سال

زراعی ۸۸ – ۸۷ در مقایسه با سایر محصولات کشاورزی دارا می‌باشد (وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸۹). استفاده همگانی و رواج جهانی گندم به دلیل موارد استفاده متعدد، مقاومت به بسیاری از پاتوژن‌ها و آفات، هزینه کم تولید، رشد سریع، انعطاف پذیری ژنتیکی و سازگاری با انواع شرایط آب و هوایی می‌باشد (واسیل و اندرسون، ۱۹۹۷).

۱- ۲- پیدایش گندم نان و دوروم

گندم از جنس تریتیکوم[۱] بوده و در سه گروه پلوئیدی متشکل از دیپلوئید (۲n=2x=۱۴)، تتراپلوئید (۲n=۴x=۲۸) و هگزاپلوئید (۲n=۶x=۴۲) طبقه‌بندی می‌شود. تنها دو گونه جنس تریتیکوم از لحاظ تجاری مهم هستند، که یکی گندم نان و دیگری گندم دوروم (گندم ماکارونی) است (علوی، ۱۳۸۶). گندم نان یک گونه هگزاپلوئید بوده (*Triticum aestivum* L.، ۲n=۶x=۴۲) و دارای سه گروه ژنوم بسیار مرتبط با یکدیگر (A، B و D) می‌باشد. گندم هگزاپلوئید از دو رخداد پلی‌پلوئیدی مستقل بوجود آمده است. پدیده‌ی اول دورگ گیری دو گونه‌ی دیپلوئید می‌باشد: یکی از اجداد *Triticum urartu* (ژنوم AA، ۲n=2x=۱۴) و یک گونه‌ی ناشناخته (ژنوم BB). نتاج حاصل از تلاقی این دو گونه پس از آمفی دیپلوئیدی منجر به تولید گندم آلوتتراپلوئید (*T. turgidum* ssp. Dicoccum ،۲n=۴x=۲۸) با ژنوم AABB گردیده است (کوانگ گو و همکاران، ۲۰۰۶). گندم دوروم (*Triticum durum*) نیز که تتراپلوئید بوده

(۲n=۴x=۲۸، ژنوم AABB) و احتمالا از طریق تجمع چندین موتاسیون، از گندم Emmer بوجود آمده، در این مجموعه قرار گرفته است (علوی، ۱۳۸۶). در پلی-پلوئیدی دوم که حدود ۸۰۰۰ - ۱۰۰۰۰ سال پیش اتفاق افتاده است، یکی از اجداد دیپلوئید گندم به نام *Aegilops tauschii* دارنده ژنوم DD با گندم آلوتتراپلوئید تلاقی یافته و از آمفی دیپلوئیدی نتاج آن تلاقی، گندم هگزاپلوئید حاصل شده است (کوانگ گو و همکاران، ۲۰۰۶).

---

1. *Triticum*

۱- ۳- ساختمان دانه گندم

بطور کلی ساختمان دانه گندم از سه قسمت تشکیل شده است: پریکارپ، آندوسپرم و جنین. پوسته یا پریکارپ به استثنای محل شکاف طولی از ۵ تا ۶ لایه سلولی تشکیل شده است. در زیر پریکارپ پوسته نازک بذر یا تستا قرار دارد که از یک لایه سلولی تشکیل یافته است. در زیر تستا یک لایه هیالین یا نوسل قرار دارد که فقط از دو لایه سلولی تشکیل گردیده است. بعد از نوسل، لایه آلورون و سپس آندوسپرم واقع شده است. طبقه آلورون خارجی‌ترین لایه سلولی آندوسپرم بوده و لذا بخشی از آندوسپرم محسوب می‌شود ولی به هنگام آسیاب کردن به همراه پوسته‌های دانه جدا می‌گردد. لایه آلورون فاقد نشاسته و گلوتن می-باشد ولی از لحاظ فیزیولوژیک دارای اهمیت بسیار زیادی است. آندوسپرم در خلال تکامل دانه شکل گرفته و قسمت عمده دانه را پر می‌کند و در نهایت حدود ۹۰

درصد وزن کل دانه را شامل می‌شود. سلول‌های آندوسپرم در هنگام رسیدن بذر مرده و با نشاسته و پروتئین انباشته می‌گردند. جنین یا گیاهک دانه گندم در قاعده دانه گندم قرار گرفته و از قسمت‌های مختلفی همچون کلئوپتیل، اسکوتلوم، ریشه‌چه و بافت محافظ جنین تشکیل یافته است (گلکاری، ۱۳۷۶).

۱- ۴- ترکیبات شیمیایی دانه گندم

بسته به کاربردهای گوناگون گندم، ترکیب شیمیایی آن حائز اهمیت است. تغذیه انسان و استفاده در دامپروری و صنعت از نمونه‌های بارز کاربردهای گندم محسوب می‌گردد. عموما این ترکیبات شامل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، مواد معدنی و ویتامین‌ها است. دانه گندم به طور متوسط شامل ۱۳ درصد آب، ۱۲ درصد پروتئین، ۲ درصد چربی، ۶۹ درصد نشاسته، ۲ درصد سلولز و ۲۰ درصد مواد معدنی می‌باشد (گلکاری، ۱۳۷۶). دانه‌های گندم دوروم نسبت به گندم نان، شیشه‌ای‌تر (غنی از مواد پروتئینی) بوده و مقدار گلوتن آن بیش از ۳۰ درصد می‌باشد (علوی، ۱۳۸۶).

۱- ۵- پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه گندم

اکثر پروتئین‌های گندم و غلات از نوع ذخیره‌ای می‌باشند. این پروتئین‌ها که در زمان رسیدن دانه درآن تجمع می‌یابند در فرایند جوانه‌زنی، تحت تاثیر آنزیم‌های مختلف شکسته شده و به منبع نیتروژن برای رشد جنین تبدیل می‌شوند (گلکاری، ۱۳۷۶). آندوسپرم گندم حاوی ۱۵ – ۸ درصد پروتئین می‌باشد که ۸۰ درصد آن را

پرولامین‌ها (پروتئین‌های گلوتن) تشکیل می‌دهند (هرپن و همکاران، ۲۰۰۶). گلوتن یکی از پیچیده‌ترین پروتئین‌های طبیعی است. در طی عمل تخمیر و ورآمدن خمیر، خواص گلوتن سبب می‌شود گاز کربنیک حاصل، در فضاهای کوچک ساخته شده در خمیر حبس شده و خمیر حجیم گردد. در بین آرد غلات مختلف تنها آرد گندم است که به دلیل داشتن گلوتن دارای این خصوصیات بوده و خمیر قوی با کشسانی بالا، حاوی گاز کربنیک و در نهایت نانی سبک و خوشمزه تولید می‌کند. علاوه بر گلوتن پروتئین‌های دیگری نظیر آلبومین و گلوبولین نیز به مقدار کم در دانه گندم وجود دارند. غلظت پروتئین از لایه خارجی آندوسپرم به طرف لایه‌های داخلی آن کاهش می‌یابد (گلکاری، ۱۳۷۶).

۱- ۵- ۱- گلوتن

پروتئین‌های گلوتن چندشکلی بالایی در اندازه پلی-پپتیدها از خود نشان می‌دهند. بطوریکه در الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید بیش از ۵۰ جزء مشاهده می‌شود. این پروتئین‌ها دارای ۴۰ تا ۷۵ درصد گلوتامین و پرولین بوده و در مخلوط آب و الکل قابل حل می‌باشند. گلوتن گندم بر اساس عملکرد به دو گروه گلوتنین‌ها و گلیادین‌ها تقسیم می‌شود (واسیل و اندرسون، ۱۹۹۷). پروتئین‌های گلوتن بزرگترین مولکول-های پروتئینی یافت شده در طبیعت هستند و استحکام و چسبندگی خمیر ارتباط شدیدی با گلوتنین‌ها و گلیادین-ها دارد (آلپتر و همکاران، ۱۹۹۶).

گلوتنین‌ها پلیمرهای دارای پیوندهای دی‌سولفیدی بوده و به دو گروه زیرواحدهای گلوتنین با وزن

مولکولی بالا (HMW-GS[1]) و زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS[2]) تقسیم می‌شوند (واسیل و اندرسون، ۱۹۹۷). زیرواحدهایHMW حدود ۱۰ درصد کل پروتئین ذخیره‌ای بذر را تشکیل می‌دهند (یان و همکاران، ۲۰۰۴) و دارای وزن مولکولی ۶۷ تا ۸۸ کیلو دالتون می‌باشند. زیرواحدهای HMW پس از برقراری پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی، به پلیمرهای غول‌پیکری با وزن مولکولی ۵۰۰ هزار تا بیش از ۱۰ میلیون دالتون تبدیل می‌شوند (آلتنبچ و همکاران، ۲۰۱۰). احتمالا ویژگی منحصر به فرد گلوتن گندم که در پروتئین‌های ذخیره‌ای سایر غلات مشاهده نمی‌شود، به اندازه بسیار بزرگ این

---

1. High molecular weight glutenin subunits
2. Low molecular weight glutenin subunits

پلیمرها برمی‌گردد (بروک و همکاران،۲۰۰۹).

زیرواحدهای HMW خود به دو زیرگروه x-type (با وزن مولکولی بالا) و y-type (با وزن مولکولی پایین) تقسیم می‌شوند. ژن‌های رمزکننده زیرواحدهای x-type و y-type به شدت پیوسته بوده و با هم به ارث می‌رسند. زیرواحدهای LMW نیز به سه زیرگروه B-type، C-type و D-type تقسیم می‌شوند (بروک و همکاران، ۲۰۰۹). وزن مولکولی زیرواحدهای LMW مشابه α و γ گلیادین‌ها می‌باشد. گلیادین‌ها نیز مولکول‌های مونومری هستند که به سه گروه α/β، γ و ω گلیادین‌ها دسته‌بندی می‌شوند و دارای وزن مولکولی ۲۸ تا۵۵ کیلو دالتون می‌باشند (آلتنبچ و همکاران، ۲۰۱۰).