بسم الله الرحمن الرحیم

مدیریت تحصیلات تکمیلی
دانشکده کشاورزی
گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی گیاهی

بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم سیستان بر اساس کیفیت نانوایی با استفاده از نشانگر STS

استادان راهنما:
دکتر محمود سلوکی
دکتر مسیح فروتن

استاد مشاور:
دکتر براتعلی سیاه سر

تهیه و تدوین:
یعثوب شیری

خرداد ۹۱

تقدیم به:

دکتر احمد احمدیان؛

که دوستی حقیقی و معلمی مهربان است.

تقدیم به:

شهدای گرانقدر عرصه علم و دانش؛

"شهیدان علیمحمدی، شهریاری، رضایی نژاد، تهرانی مقدم و احمدی روشن"

"و خانواده های گرانقدر آنان"

که با تلاش علمی شبانه روزی خود به ملت ایران "عزت" و با شهادت خود به جامعه علمی و دانشگاهی ایران "آبرو"بخشیدند و با دو بال "علم" و "ایمان" به اعلی علیین پیوستند.

و تقدیم به:

خانواده مهربانم؛

که در طول سال‌های تحصیل بلکه در لحظه لحظه زندگی، همواره یاور و یارم بوده‌اند و خاک قدومشان بوسه گاه لبها و سرمه چشم‌های من است.

تشکر و قدردانی

سپاس بی نهایت خدای را که دریای بی منتهای بخشش است و بال فضل، بر کائنات گشوده و سایه لطف بر بندگان گسترده و بامنت خود، مرا به زینت ایمان آراسته و در خیمه لطف منزل داده است. چگونه شکر او را گویم که منت را بر من تمام کرده و از سر رحمت خود، مرا در زمره جویندگان علم و دانش قرار داده است.

تمام مباهات من در طول تحصیل، نه دست یازیدن به درجه ای از دانش، بلکه فراسوی آن تلمذ در نزد استادانی بوده است که خود دریایی از معرفت بودند و سهم من پرتوی از تشعشع معرفت ایشان بر اندیشه بوده است. در این رهگذر، به رسم ادب خود را ملزم می دانم که با تواضع تام و از صمیم قلب تشکر و سپاس خالصانه خود را از استادان راهنمای گرانقدرم **جناب آقای دکتر محمود سلوکی و جناب آقای دکتر مسیح فروتن** عرضه دارم، همچنین از استاد مشاور عزیز و مهربانم **جناب آقای دکتر براتعلی سیاه سر** که در طول این مسیر، زحمات بی-شائبه ای متحمل گشته و با بردباری مرا راهنمایی فرمودند. بی شک انجام مراحل مختلف این پایان نامه بدون حمایت و پشتیبانی ایشان امکان پذیر نبود. مدیون لطف و بزرگواری ایشان هستم و از افتخار شاگردی در محضر ایشان به خود می بالم.

از کارشناس پژوهشکده زیست فناوری **سرکار خانم مهندس حمیده خواجه** و همچنین دوستان عزیز **سرکار خانم مهندس نیره خسروی، سرکار خانم مهندس الهام صبوری، سرکار خانم مهندس سمیه خون رز، سرکار خانم مهندس سعیده سعیدی و سرکار خانم مهندس بهاره پیری و خانواده محترمشان** برای کمک های بی دریغشان سپاسگزارم.

از دوستان عزیز **جناب آقای مهندس میثم رئیسی عزیزی، جناب آقای مهندس احسان محرابی نژاد** و همچنین دوست عزیزم **جناب آقای مهندس ابراهیم قریشی** که در مراحل مختلف این تحقیق یاری رسان بنده بودند کمال سپاس و قدردانی را دارم.

بر خود لازم میدانم مراتب قدردانی و سپاس خود را از دوست و برادر عزیزم **جناب آقای مهندس جابر صیی زاده** برای تمام خوبیهایش ابراز دارم و امیدوارم خداوند همیشه یار و یاورش باشد.

از سروران بزرگوار **جناب آقای دکتر امیر احمدی آغ تپه، جناب آقای دکتر ابوالفضل توسلی، جناب آقای دکتر جعفر زارع، جناب آقای دکتر حمیدرضا محمدی، جناب آقای دکتر وحید محمدی، جناب آقای دکتر مهدی بابانیان، جناب آقای دکتر یاسر اسماعیلیان و جناب آقای دکتر علی علی پور**، همچنین **جناب آقای مهندس جلال عباسیان** برای تمام زحمت هایم حلالیت طلبیده و امیدوارم در تمام مراحل زندگی موفق و مؤید باشند.

در پایان زیباترین سپاس ها را به تک تک اعضای خانواده ام که دعای خیرشان همواره حلال مشکلاتم بوده و در فراز و نشیب این مسیر همواره یار و پشتیبانم بوده و کوتاهی ها و تقصیراتم را با بردباری نادیده گرفته اند، تقدیم می دارم و از همدلی، مهربانی و صبوری شان بی نهایت سپاسگذارم.

یعقوب شیری | بهار ۱۳۹۱

چکیده

ارزش نانوایی صفت پیچیده‌ای بوده و فاکتورهایی از جمله کمیت و کیفیت پروتئین گلوتن در آن دخیل است. گلوتنین‌های دانه گندم را می‌توان از نظر وزن مولکولی به دو گروه گلوتنین با وزن مولکولی بالا و گلوتنین با وزن مولکولی پایین تقسیم‌بندی نمود که زیر واحد سنگین تاثیر بیشتری در کیفیت نانوایی دارد. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژن Glu-1 (گلوتنین زیر واحد سنگین) تعداد ۱۰۰ رقم گندم مورد کشت در ایران شامل ارقام وارداتی و بومی تهیه و با استفاده از روش STS-PCR مورد بررسی قرار گرفت. بذر ارقام مورد مطالعه در گلدان کشت شده و برگ گیاهان ۱۴ روزه برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفتند. چهار جفت آغازگر اختصاصی بر اساس مکان‌های ژنی Glu-A1، Glu-B1 و Glu-D1 برای انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز استفاده شد. چندشکلی‌های مشاهده شده با استفاده از روش‌های چند متغیره تجزیه شدند. در تجزیه‌ی مؤلفه‌های اصلی، سه مؤلفه اول ۶۱/۴۱ درصد تغییرات را توجیه کردند. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA انجام شد و در ضریب تشابه ۰/۶۳ بر اساس روش جاکارد، ارقام به دوازده گروه اصلی تفکیک شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که بین ارقام مورد کشت در ایران، در جایگاه ژنی Glu-1 تنوع قابل توجهی وجود دارد. همچنین مشاهده شد بین منطقه مورد کشت و شباهت ژنتیکی ارقام رابطه وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: فاصله ژنتیکی، گلوتنین، کیفیت نانوایی، چندشکلی STS

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه ۱

۱-۱- کلیات و اهداف ۲

فصل دوم: مروری بر تحقیقات انجام شده ۵

۱-۲-کلیات ۶

۱-۱-۲- گیاهشناسی گندم ۶

۲-۱-۲- خاستگاه و ژنتیک گندم ۷

۳-۱-۲-پروتئین‌های دانه گندم ۱۰

۱-۳-۱-۲-گلوتن ۱۱

۲-۳-۱-۲- آلبومین‌ها و گلوبولین‌ها ۱۳

۳-۳-۱-۲-گلیادین‌ها ۱۴

۴-۳-۱-۲-گلوتنین‌ها ۱۵

۴-۱-۲- ژنتیک گلوتنین‌ها ۱۸

۲-۲- تنوع ژنتیکی و ضرورت شناخت آن ۲۱

۱-۲-۲- روش‌های ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۱

۱-۱-۲-۲- نشانگرهای مورفولوژیک ۲۲

۲-۱-۲-۲- نشانگرهای مولکولی ۲۲

۳-۱-۲-۲- نشانگرهای پروتئینی ۲۳

۴-۱-۲-۲- نشانگرهای DNA و RNA ۲۳

۵-۱-۲-۲- خصوصیات مناسب یک نشانگر مولکولی ۲۴

۲-۲-۲- مبانی نشانگرهای مبتنی بر نقاط نشانمند از ردیف (STS) ۲۵

۱-۲-۲-۲- تفاوت طول قطعه‌های قابل تکثیر یا ALP ۲۵

۲-۲-۲-۲-مزایا و معایب ALP ۲۶

۳-۲-۲-۲- تفاوت طول قطعه‌های حاصل از هضم فراورده‌های واکنش زنجیرهای پلیمراز یا PBR ۲۶

۴-۲-۲-۲- مزایا و معایب PBR ۲۷
۳-۲-۲- واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR) ۲۸
۱-۳-۲-۲- اجزاء مورد نیاز برای انجام واکنش زنجیرهای پلیمراز ۲۹
۲-۳-۲-۲- بهینه‌سازی واکنش زنجیرهای پلیمراز ۳۲
۳-۲- مروری بر تحقیقات انجام شده ۳۴
فصل سوم: مواد و روش‌ها ۳۸
۱-۳- مواد گیاهی ۳۸
۱-۱-۳- استخراج DNA ۳۸
۲-۳- تعیین کمیت و کیفیت DNA ۴۱
۳-۳- آغازگرهای مورد استفاده ۴۲
۴-۳- واکنش زنجیرهای پلیمراز ۴۳
۱-۴-۳- آزمایشهای انجام شده جهت بهینه‌سازی شرایط واکنش زنجیرهای پلیمراز ۴۳
۲-۴-۳- چرخه‌های حرارتی PCR ۴۴
۱-۷-۳- ساخت ژل آگارز ۴۵
۸-۳- هضم آنزیمی ۴۵
۱۰-۳- تجزیه و تحلیل داده‌ها ۴۶
۱-۱۰-۳- ضریب کوفنتیک ۴۶
۱-۱۰-۳ تجزیه خوشه‌ای ۴۷
۲-۱۰-۳ تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۴۷
فصل چهارم: نتایج و بحث ۴۹
۱-۴- نتایج حاصل از استخراج DNA ۴۹
۲-۴- نتایج بررسی تنوع ژنتیکی ۵۰
۱-۲-۴- جفت آغازگر P1,P2 ..... ۵۰
۱-۱-۲-۴- هضم آنزیمی ۵۱
۲-۲-۴- جفت آغازگر P3,P4 ..... ۵۲

۳-۲-۴- جفت آغازگر P5,P6 ..... ۵۵
۴-۲-۴- جفت آغازگر P7,P8 ..... ۵۶
۳-۴- تجزیه و تحلیل آماری ۵۷
۱-۳-۴- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۵۸
۲-۳-۴- تجزیه خوشه‌ای ۶۲
۱-۲-۳-۴- شرح گروه‌ها و زیرگروه‌های نمودار تجزیه‌ی خوشه‌ای ۶۴
۴-۴- نتیجه گیری کلی ۷۰
۵-۴- پیشنهادات ۷۱
فهرست منابع ۷۱

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول۱-۲ فهرست آلل‌های کنترل‌کننده HMW (Payne and Lawrence, 1983) ۱۷

جدول۲-۲ژن‌های کنترل کننده گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها در گندم هگزاپلوئید ۲۰

جدول ۱-۳. اسامی ارقام مورد بررسی ۴۰

جدول ۲-۳. مواد تشکیل دهنده ۱۰۰۰ میلی‌لیتر بافر استخراج ۴۰

جدول ۳-۳. مواد تشکیل دهنده یک لیتر بافر(۱X) TAE ۴۲

جدول ۴-۳. نام، توالی و ویژگی آغازگرهای مورد استفاده. آلل‌های مورد مطالعه در فصل دوم ص ۲۰ شرح داده شده ۴۲

جدول ۵-۳. غلظت مواد استفاده شده در PCR ۴۳

جدول ۶-۳. چرخه‌های حرارتی PCR برای نمونه های گندم مطالعه شده. مرحله واسرشت اولیه و گسترش نهایی برای تمام نمونه ها یکسان بوده است (به متن مراجعه شود) ۴۴

جدول ۵-۳. غلظت مواد استفاده شده در هضم آنزیمی ۴۶

جدول ۱-۴ مقادیر ویژه، نسبت واریانس توجیه شده توسط هر مؤلفه و واریانس تجمعی حاصل از تجزیه به مؤلفه های اصلی ۵۸

فهرست اشکال

عنوان صفحه

شکل۲-۲ موقعیت‌های مکان ژنهای کنترل‌کننده پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم (Payne and Lawrence, 1983). ۱۸

شکل ۱-۴ ژل الکتروفورز استخراج DNA تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم نان (شماره گذاری‌ها بر اساس جدول (۱-۳) می‌باشد) ۴۹

شکل ۲-۴ ژل الکتروفورز تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم نان برای آغازگرهای P1,P2 ۵۱

شکل۳-۴ جایگاه برش آنزیم Hind-III در توالی محصول PCR آغازگرهای P1,P2 ۵۲

شکل ۴-۴ ژل الکتروفورز تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم نان برای آغازگرهای P3,P4 ۵۴

شکل ۵-۴ ژل الکتروفورز تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم نان برای آغازگرهای P5,P6 ۵۴

شکل ۶-۴ ژل الکتروفورز تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم نان برای آغازگرهای P7,P8 ۵۷

شکل۷-۴ نمایش دو بعدی بر اساس مؤلفه‌های اول (محور افقی) و دوم (عمودی)، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (شماره ارقام براساس جدول۱-۳) انجام شده است. ۵۹

شکل ۸-۴ نمایش دو بعدی ارقام گندم بر اساس مؤلفه‌های اول (محور افقی) و سوم (عمودی)، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (شماره ارقام براساس جدول۱-۳) ۶۱

شکل ۹-۴ گروه بندی ارقام گندم براساس مؤلفه‌های اول دوم و سوم در نمودار سه بعدی ۶۱

شکل ۱۰-۴ نمودار خوشه‌ای شماره ۱ تعداد ۳۳ رقم گندم بر مبنای روش دسته بندی UPGMA براساس ضریب تشابه جاکارد ۶۲

شکل ۱۱-۴ نمودار خوشه‌ای شماره ۲ تعداد ۳۳ رقم گندم بر مبنای روش دسته بندی UPGMA براساس ضریب تشابه جاکارد ۶۳

شکل ۱۲-۴ نمودار خوشه‌ای شماره ۳ تعداد ۳۳ رقم گندم بر مبنای روش دسته بندی UPGMA براساس ضریب تشابه جاکارد ۶۴

فصل اول

مقدمه

۱-۱- کلیات و اهداف

گندم (*Triticum aestivum*)، از سازگارترین گونه‌های غلات است و به دلیل دارا بودن ویژگی‌های ژنتیکی متفاوت، انعطاف‌پذیری فنوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌ها و داشتن ارقام مختلف در تمام دنیا کشت می‌شود. بر اساس آمار سازمان جهانی FAO، ۶۰ درصد مزارع جهان به کشت غلات اختصاص داده شده است. گندم با ۶۵۰ میلیون تن تولید سالانه رتبه چهارم را در میان محصولات کشاورزی در دنیا به خود اختصاص داده است. در بین محصولات کشاورزی تولیدی در ایران، گندم با ۱۵ میلیون تن تولید سالانه رتبه نخست را دارا می‌باشد. ایران با این میزان تولید سالانه در رتبه دوازدهم جهان قرار می‌گیرد.

در فرایند تولید نان، کیفیت مطلوب از اهمیت زیادی برخوردار است. بنابراین برآوردهای کیفیت نانوایی گندم اهمیت بالایی دارد. ارقام گندم، شرایط اقلیمی و بعضی شرایط درحین کشت روی ویژگیهای کیفی گندم تأثیرگذار هستند. ارزش نانوایی صفت پیچیده‌ای بوده و فاکتورهایی از جمله کمیت و کیفیت پروتئین گلوتن در آن دخیل است. به دلیل داشتن بافت همبندی گلوتن گندم، خاصیت نانوایی آن دارای ارزش بسیار بالایی است. کیفیت گلوتن گندم بستگی به ژنوتیپ ارقام گندم دارد (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷).

کیفیت نهایی نان معمولاً از طریق آزمایش استاندارد پخت نان تعیین می‌شود که به وقت و هزینه نسبتاً زیادی نیاز دارد، ولی از آزمایشات و اندازه‌گیری‌های مختلفی بعنوان شاخص پیش‌بینی ارزش نانوایی گندم استفاده می‌شود که نسبتاً سریع و کم‌هزینه است. حدود نیم قرن است که رابطه مستقیم حجم نان با میزان پروتئین در هر رقم معلوم و ضریب همبستگی این دوصفت تعیین شده است (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷). اما مقایسه این خطوط همبستگی نشان می‌دهد که ارقام مختلف گندم با مقادیر ثابت پروتئین با هم تفاوت معنی‌داری از نظر ارزش نانوایی دارا می‌باشند. روش‌های رایج در ارزش نانوایی اکثراً

تحت تأثیر عوامل محیطی تغییرات زیادی نشان می‌دهند، بطوری‌که ممکن است رقم واحدی طی سال-های مختلف و یا در مناطق متفاوت با مختصر تغییری در شرایط تولید به نحو متفاوتی ارزیابی شود. گلوتنین‌های دانه گندم را می‌توان از نظر وزن مولکولی به دو گروه گلوتنین با وزن مولکولی بالا و گلوتنین با وزن مولکولی پایین تقسیم‌بندی نمود. بر طبق آزمایشات انجام گرفته، مشخص شده‌است که میزان کیفیت نانوایی تحت کنترل گلوتنین با وزن مولکولی بالا می‌باشد و گلوتنین با وزن مولکولی پایین تأثیر چندانی ندارند (گرامی، ۱۳۷۲).

برای مطالعه مولکولی ارزش نانوایی می‌توان از نشانگرهای پروتئینی استفاده کرد. این نشانگرها تغییرات را در سطح توالی و بیان ژن بصورت نشانگرهای همبارز نشان می‌دهند. این نشانگرها محدود هستند و تحت تأثیرتغییرات پس از ترجمه می‌باشند. پیشرفت‌های فراوانی در زمینه زیست‌شناسی مولکولی و بیوتکنولوژی صورت گرفته است و ابزارهای قدرتمندی را برای پژوهش‌های ژنتیکی تفصیلی گیاهان عالی از جمله گیاهان زراعی فراهم کرده‌اند. شاید اساسی‌ترین و مفیدترین این ابزارها نشانگرهای DNA باشند که همان تفاوت‌های قابل ثبت ردیف‌های بازی DNA موجود بین دو یا چند نمونه می‌باشند. نشانگرهای مولکولی به وفور در هر موجود زنده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. اگرچه پتانسیل‌های نشانگرهای مولکولی برای اصلاح کنندگان از حدود ۷۵ سال پیش شناخته شده اند، ولی کاربرد آنها تا حدود ۳۰ سال پیش به دلیل نبود نشانگرهای مناسب، بسیار محدود بود. گسترش نشانگرهای DNA موجب بکارگیری روش‌های بسیاری برای غلبه بر مشکلات اصلاحی و ژنتیکی موجودات شده است. در سال‌های گذشته، از نشانگرهای DNA برای مطالعات پایه‌ای وکاربردی انسان، حیوان و گیاه استفاده شده است. تاکنون تعداد زیادی از نشانگرهای DNA معرفی شده‌اند و در تجزیه‌های ژنتیکی موجودات مورد استفاده قرار گرفته‌اند، این نشانگرها از نظر بسیاری از ویژگی‌ها مانند میزان چندشکلی، غالب یا همبارز بودن، تعداد جایگاه‌های تفکیک شده در هر آزمایشگاه، توزیع در سطح کروموزوم، تکرارپذیری، نیاز یا عدم نیاز به توالی‌یابی DNA الگو و هزینه مورد نیاز متفاوت می‌باشند.

ابداع و معرفی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)[1] نقش برجسته‌ای در توسعه و تکامل نشانگرهای DNA داشته است. PCR یک روش سریع تکثیر آزمایشگاهی قطعه یا قطعات مورد نظر DNA است (نقوی و همکاران، ۱۳۸۴). آگاهی دقیق از تنوع ژنتیکی مجموعه‌های ژنتیکی گیاهی ضمن حفظ ذخائر ژنتیکی گیاهی، قابلیت استفاده از آنها را در برنامه‌های اصلاحی تامین می‌کند. همچنین کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی نسبی بین افراد و جمعیت‌ها و روابط خویشاوندی بین آنها، امکان سازماندهی ژرم پلاسم و تهیه جمعیت‌های مناسب برای ترسیم نقشه ژنتیکی و مکان یابی ژن‌ها را فراهم می‌سازد (Virk *et al*, 1995). نشانگرهای مولکولی برای شناسایی و انتخاب هیبریدها در مراحل ابتدایی و همچنین برآورد تنوع ژنتیکی آنها استفاده می‌شوند (Xiaomel *et al*, 2002).

ضعف کیفیت نانوایی یکی از مشکلات عمده‌ی گندم‌های ایران می‌باشد. همه ساله بخش عظیمی از گندم تولیدی بواسطه ضایعات نان دور ریخته می‌شود. سهم مهمی از ایجاد ضایعات مربوط به پایین بودن کیفیت نانوایی گندم است. جهت تولید گندم‌هایی با کیفیت نانوایی بالا، نیازمند بررسی‌های ژنتیکی بر روی ژنوم گندم‌های زراعی می‌باشیم.

در این تحقیق، کیفیت نانوایی تعداد ۱۰۰ رقم گندم شامل ارقام تجاری مورد کشت در دشت سیستان و سایر نقاط با استفاده از نشانگرهای مولکولی مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفته‌اند. تلاش تحقیق حاضر در راستای شناسایی چند شکلی‌ها و تنوع موجود در توالی ژن گلوتنین زیر واحد سنگین در بین ارقام مورد مطالعه می‌باشد تا نتایج حاصل برای تولید رقمی که هم از لحاظ عملکرد و هم از لحاظ خواص نانوایی مطلوب باشد، بکار گرفته شوند. بدین ترتیب به رقم پرمحصول دارای ژن‌های کیفی خاصیت نانوایی دسترسی حاصل می‌گردد.

[1] Polymerase Chain Reaction

فصل دوم

بررسي مطالعات گذشته

۲- مروری بر تحقیقات انجام‌شده

۲-۱-کلیات

۲-۱-۱- گیاه‌شناسی گندم

گندم معمولی یا گندم نان (*Triticum aestivum L*) گیاهی است تک لپه، خودگشن، روزبلند ویکساله. از نظر سطح پلوئیدی، گندم به سه گروه دیپلوئید (۲n=۱۴)، تتراپلوییید (۲n=۲۸) و هگزاپلوئید (۲n=۴۲) تقسیم‌بندی می‌شود. ساقه‌های گندم راست، استوانه‌ای و بندبند یا ماشوره‌ای است. طویل‌ترین میانگره، بالاترین آنهاست که به سنبله ختم می‌شود. برگ‌های دوسویه بطور متناوب در دو ردیف ساقه قرار دارند. برگ‌ها فاقد دمبرگ و شامل زبانک و گوشوارک می‌باشند. پهنک برگ نواری شکل دارای رگبرگ‌های موازی و غلافی شکافدار می‌باشد. اهمیت برگ انتهایی ساقه گندم (برگ پرچم) که جوان‌تر از بقیه برگ‌ها می‌باشد و دیرتر از سایر برگ‌ها به وجود می‌آید، بسیار زیاد است و نقش مهمی در تأمین مواد فتوسنتزی برای دانه‌ها دارد. گل آذین گندم، سنبله است. محور اصلی از تعدادی گره و میانگره‌های کوتاه تشکیل شده است و سنبلچه‌ها در روی محور اصلی به وجود می‌آیند که هر یک دارای ۵-۳ گلچه می‌باشند. پس از تلقیح معمولا در هر سنبلچه سه گل بارور گردیده و به دانه تبدیل می‌شود. گندم گیاهی دوجنسی با گل‌های ناقص است. مادگی به کلاله دو شاخه پرمانند ختم می‌شود. تعداد پرچم‌ها اغلب سه عدد و به ندرت شش عدد و یا یک عدد می‌باشد (خدابنده، ۱۳۷۱).

دانه گندم مانند سایر غلات از نوع گندمه، خشک و ناشکوفا می‌باشد. وزن هزاردانه در انواع گوناگون گندم بین ۵۲-۱۵ گرم است (خدابنده، ۱۳۷۱). دانه رسیده گندم از نظر ساختمانی شامل قسمت‌های

فرابر (پریکارپ[۱])، پوسته حقیقی بذر، لایه آلئورون، آندوسپرم[۲] و جنین است. اجزا شیمیایی دانه گندم را کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، چربی، ویتامین‌ها، آب و مواد معدنی تشکیل می‌دهند. شایع‌ترین کربوهیدرات که در دانه ذخیره می‌شود نشاسته است که ۶۳ درصد از ماده خشک دانه کامل گندم را شامل می‌شود. پروتئین‌ها منبع نیتروژن در بذر بوده که براساس خصوصیات حلالیت آنها به چهار گروه شامل: آلبومین[۳]ها، گلوبولین[۴]ها، پرولامین[۵]ها و گلوتامین[۶]ها تقسیم شده است. آلبومین‌هاو گلوبولین‌ها نقش متابولیکی و ساختمانی دارند و پرولامین‌ها و گلوتامین‌ها پروتئین‌های ذخیره‌ای به شمار می‌روند (خدابنده، ۱۳۷۱). گلیادین[۷] و گلوتنین[۸] اجزای تشکیل دهنده گلوتن[۹] هستند. پروتئین‌های دانه گندم از دو جهت می‌توانند دارای اهمیت باشند. اول از جهت اهمیت آنها در تغذیه انسان به خاطر تأمین اسیدآمینه‌های ضروری و دیگری اهمیت این پروتئین‌ها از نظر تکنولوژی تهیه نان است (خدابنده، ۱۳۷۱).

پروتئین‌های دانه غلات خصوصاً گندم، طی سال‌های زیادی، با هدف درک ساختار آنها، کنترل سنتز و نقش آنها در کاربردهای دانه مبحث مهم بسیاری از تحقیقات بوده است.

۲-۱-۲- خاستگاه و ژنتیک گندم

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یک گیاه آلوهگزاپلوئید[۱۰](AABBDD) با ۴۲ کروموزوم است. کروموزوم‌های گندم در سه گروه هفت جفتی قرار گرفته‌اند که نسبت به یکدیگر همولوگ[۱۱] هستند. گندم

[1] Pericarp
[2] Endosperm
[3] Albumin
[4] Globulin
[5] Prolamin
[6] Glutamin
[7] Gliadin
[8] Glutenin
[9] Gluten
[10] Allohexaploid
[11] Homoeologous

آلوپلوئیدی[1] است که از تلاقی سه گونه دیپلوئید[2] دارای ژنوم A، B و D بوجود آمده است (Kimer and Sears, 1987).

دلایل لازم برای اینکه منشأ ژنوم A در گندم‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید (۲n=۲x=۱۴=AA) *T.monococum* می‌باشد توسط Kihara (۱۹۲۴،۱۹۱۹)، Melbon و Thampson (۱۹۲۷) و Kihara و Nishiyama (۱۹۲۸) ارائه شده است (اهدایی، ۱۳۷۲). براساس شباهت‌های مورفولوژیکی و توزیع جغرافیایی، این احتمال وجود دارد که ژنوم A گندم‌های مختلف از *T.aegilopides* و یا از *T.thaoudar* بدست آمده باشد. مدارک باستان شناسی هم نشان می‌دهد که قدمت کشت گندم تتراپلوئید به قدمت گندم دیپلوئید بوده است (اهدایی، ۱۳۷۲). بنابراین ژنوم A گندم تتراپلوئید باید به وسیله فرم وحشی دیپلوئید ایجاد شده باشد. بعدها با استفاده از روش‌های مولکولی نتیجه گرفته شد که منشأ ژنوم A در *T.monococcum* از *T.aegilopides* و منشأ ژنوم A در *T.aestivum* و *T.dicoccum* از *T.urartu* می‌باشد (ارزانی، ۱۳۸۳).

مطالعات سیتوژنتیکی Dvark[3] و همکاران (۱۹۹۳) روی گونه‌های دهنده ژنوم A نشان داد که *T. zhukovskyi* دو جفت ژنوم A دارد. نتایج مطالعات روی تنوع و چندشکلی گیاهان در گندم‌های اینکورن[4] زراعی و وحشی نیز دلالت بر این دارد که ژنوم A گندم‌های پلی‌پلوئید از *T.urartu* بدست آمده است (ارزانی، ۱۳۸۳).

Sasanuma و همکاران (۱۹۹۶)، Daud و Gustafson (۱۹۹۶) با کمک چندین تکنیک RFLP و کلون سازی مولکولی DNA به این نتیجه رسیدند که به احتمال قوی *T.speltoides* دهنده ژنوم B به گندم‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید است ولی اظهار نظر قطعی را منوط به انجام مطالعات بیشتر دانسته‌اند. یک تئوری قوی این است که ژنوم B پس از ورود به گندم‌های تترا و هگزاپلوئید در طول دوره تکاملی تغییر یافته

[1] Alloploid
[2] Diploid
[3] Cytogenetic
[4] Encorn

است و برخی نیز با در نظرگرفتن منشأ مرکب برای ژنوم B احتمال می‌دهند که این ژنوم از تلاقی دو یا چند آلوتتراپلوئید که دارای یک ژنوم مشترک بوده‌اند، بدست آمده باشد (Sasanuma *et al*., 1996).

منشأ ژنوم D بطور غیر مستقیم کشف شد. هیبرید *Ae.cylindrica* (۲n=۲۸) با گندم هگزاپلوئید (۲n=۴۲) هفت جفت بی‌والانت[1] تشکیل می‌دهد ولی با گندم تتراپلوئید جفت‌شدن نشان نمی‌دهد و یا جفت‌شدن خیلی کم است بنابراین به این نتیجه‌رسیدند که در گندم هگزاپلوئید ژنومی وجود دارد که در گندم تتراپلوئید وجود ندارد. این در حالی بود که *Ae.cylindrica* نیز دارای این ژنوم بود. بعداً مشخص شد که ژنوم D در *Ae.cylindrica*، نظیر گندم نان، از *Ae.tauschii* آمده است. این مطلب با تهیه گندم هگزاپلوئید مصنوعی از *T.dicoccoides* و *Ae.tauschii* اثبات شد. از آنجایی که این گندم‌های مصنوعی مشابه گندم‌های اسپلتای امروزی (*T.spelta*) می‌باشند، زمانی عقیده بر این بود که منشأ گندم‌های ۶x از نوع اسپلتا می‌باشد که گندم نان امروزی را با تعدادی جهش منفرد ایجاد کرده است. مدارک باستان-شناسی نشان می‌دهد که گندم زراعی ۴x مانند گندم‌های وحشی ۴x قبل از به وجودآمدن هگزاپلوئیدهایی نظیر *T.speita* یا سایر گندم‌های وحشی ۶x وجود داشته‌اند (ارزانی، ۱۳۸۳). در یک مطالعه، منشأ مستقیم *T.aestivum* و چهار گونه از *Aegilops* با استفاده از کلون DNA تکراری PASA جدا شده از *A.tauschii* مورد آزمایش قرار گرفت. مطالعات بعدی نشان داد که ژنوم D گندم نان به ژنوم D موجود در *Ae.cylinrica* و *Ae.tauschii* خیلی نزدیک‌تر است. مطالعات دیگری نیز نشان داد که ژنوم D در *Ae. ventricosa* مشابه ژنوم *Ae.cylindrica* می‌باشد (ارزانی، ۱۳۸۳). در مطالعات Keli و همکاران(۱۹۹۶)، نوکلئوتیدها و توالی اسیدآمینه یک ژن گلوتنین با وزن مولکولی بالا بدست آمده از *Ae.tauschii* تشابه زیادی با این نواحی در گندم نان نشان دادند (طاهرنژاد، ۱۳۸۵).

[1] Bivalent

۳-۱-۲-پروتئین‌های دانه گندم

از نظر ارزش غذایی، مواد پروتئینی مهم‌ترین بخش دانه گندم می‌باشد که ۲۰-۱۰ درصد وزن خشک دانه را تشکیل می‌دهد (Smith *et al.*, 1989). مقدار پروتئین دانه گندم به عوامل ژنتیکی (رقم) و محیطی، میزان نیتروژن خاک، طول روز و زمان رسیدن دانه بستگی دارد (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷). غنی-ترین بخش‌های دانه گندم از نظر مواد پروتئینی، بخش‌های بیرونی به ویژه لایه آلئورون، جنین و اسکوتلوم[1] می‌باشد. هفتاد و دو درصد کل مواد پروتئینی در آندوسپرم، ۱۶درصد در لایه آلئورون و ۸ درصد در جنین و اسکوتلوم ذخیره شده و در خود آندوسپرم نیز مقدار پروتئین از مرکز به طرف پیرامون افزایش می یابد (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷). به دلیل داشتن اسیدآمینه‌های ضروری ارزش بیولوژیکی پروتئین‌های جنین و آلئورون بیشتر از پروتئین‌های ذخیره‌ای است. اکثر پروتئین‌های گندم از نوع ذخیره‌ای است. این پروتئین‌ها که در زمان رسیدن دانه در آن تجمع می‌یابند، در فرایند جوانه‌زنی تحت تأثیر آنزیم‌های مختلف شکسته و به منبعی از نیتروژن برابرشد جنین تبدیل می‌گردند (Arus *et al.*, 1993).

از مدت‌ها پیش معلوم شده که پروتئین‌های آرد گندم نقش اساسی در تعیین کیفیت نان دارند. در این مورد هم مقدار پروتئین و هم نوع و کیفیت آن نقش اساسی دارد. آندوسپرم گندم دارای اندوخته بزرگی از پروتئین‌های ذخیره‌ای است. اصلی‌ترین پروتئین ذخیره‌ای یعنی گلوتن، شامل دو گروه از پرولامین‌ها به نام‌های گلیادین و گلوتنین می‌باشد که یکی از پیچیده‌ترین پروتئین‌های طبیعی است (عبدمیشانی و همکاران، ۱۳۷۷). گلوتن به دلیل اعطای خاصیت چسبندگی-کشسانی به خمیر که شرط اساسی در بهبود کیفیت نان است، بسیار مورد توجه می‌باشد. تفاوت‌های کیفی در ترکیبات و نسبت این اجزاء باعث تفاوت در ارزش نانوایی ارقام گندم می‌گردد (Bushuk *et al.*, 1996).

[1] Scutellum