مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (30) العدد (1) 2008
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (30) No. (1) 2008

استخدام المؤشرات البيوكيميائية طرائق فعالة في الكشف عن التباين الوراثي ضمن أصناف القمح السداسية والرباعية

الدكتور محمد معلا *
الدكتور نزار ميرعلي **
الدكتور عبد الرحمن كلحوت***
سها أشتر ****

(تاريخ الإيداع 17 / 9 / 2007. قبل للنشر في 2008/1/22)

□ الملخّص □

استخدمت تقنيتا A-PAGE ، و SDS-PAGE، لوصف 38 صنفاً، من القمح القاسي، و12 صنفاً، من القمح الطري. نتج من التقانة الأولى 13 حزمة متباينة، ومن الثانية 12 حزمة، متباينة، مرتفعة الوزن الجزيئي(HMW-GS) (high molecular wheight glutenin subunits). جمعت البيانات كاملة (25 حزمة متباينة)، وحُسب معامل التشابه الوراثي، بين الأصناف المدروسة، بحسب (1908) Jaccard. ثم أُدرج، بعد ذلك، مخطط التحليل العنقودي، مظهراً القرابات الوراثية بين الأصناف المدروسة، بحسب طريقة (UPGMA). بلغت نسبة التنوع الوراثي ضمن الأصناف القاسية 56%، أما في القمح الطري فبلغت 100%. أظهرت شجرة القرابة، التي ضمت الأصناف الطرية، والقاسية، انفصال أصناف الطرية، في عنقود مستقل، عن الأصناف القاسية. يُستنتج، من هذه الدراسة، فعالية بروتينات التخزين (جليادين وجلوتينين)، بوصفها مؤشراً مفيداً، للكشف عن التباينات الوراثية، ضمن أصناف القمح، ودراسات التنوع الوراثي، وتسجيل أصناف جديدة، واختبارات النسب.

كلمات مفتاحية: جلوتينين، جليادين، قمح (قاسي، طري)، تنوع وراثي،HMW-GS

* أستاذ – قسم المحاصيل– جامعة تشرين– كلية الزراعة– اللاذقية– سورية.
**رئيس قسم التقانة الحيوية– هيئة الطاقة الذرية.
***باحث– الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية.
****طالبة دراسات عليا– جامعة تشرين–كلية الزراعة– اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (30) العدد (1) 2008
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (30) No. (1) 2008

Use of Biochemical markers as an effevtive tools to detect genetic variability within tetraploides and hexaploides wheat varieties

Dr. Mohammad Mouala*
Dr. Nizar Mir Ali**
Dr. Abdul Rahman Kalhout***
Suha Ashtar****

(Received 17 / 9 / 2007. Accepted 22/1/2008)

□ ABSTRACT □

In this study two techniques (A-PAGE&SDS-PAGE) have been applied to characterize 38 durum wheat varieties and 12 bread wheat varieties. Number of bands resulted by applying the first metohd (A-PAGE) was 13 polymorphic bands, while 12 HMW- GS (high molecular wheigt glutenin subunits) have been resulted by applying SDS-PAGE. Data were combined together (25 polymorphic bands) to calculate the genetic similarities between studied individuals using Jaccard's coeficient followed by setting up the cluster analysis using UPGMA method. The value of genetic diversity was 56% between durum wheat varieties, while the same value was increased to reach 100% in the bread wheat varieties. Dendogram for all 50 genotypes showed a separation of bread wheat varieties in a sub cluster which is distinct from the sub cluster containig the bread wheat varieties. Finally we could conclude the effectivness of seed storage protein marker as a useful tools to characterize individuals, evaluate genetic diversity, registration of new varieties and pedigree analysis studies.

Key words: Glutenin, Gliadin, durum wheat, bread wheat, HMW-GS, genetic diversity

***Prof, Department Of Field Crops, Faculty Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
****Head Of Department Of Biotechnology, Commission Of Atomic Energy.**
*****Scientist, General Commission For Scientific Agriculture Research.**
******PHd student, Department Of Field Crops, Faculty Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

المقدمة:

جمع الناس القمح البري قبل بداية الزراعة، بزمن طويل، ويعتقد العلماء أنه منذ نحو 11000 عام؛ اتخذ الناس في الشرق الأوسط أولى الخطوات تجاه الزراعة، واستئناس النباتات، وكان القمح (*Triticum Spp.*) واحداً من أوائل النباتات التي زرعوها، إذ كان المزارعون ينتخبون الحبوب من أفضل نباتات القمح عندهم، لاستخدامها بذاراً لزراعة المحصول التالي. وبهذه الطريقة من الانتخاب، إضافة إلى الانتخاب الطبيعي، نُقلت صفات معينة ومرغوبة باستمرار. وما العشائر النباتية، والأصناف المحلية، الموجودة حالياً، إلا نواتج لهذا الانتخاب؛ كالصنف حوراني، الذي مازال يزرع في الكثير من المناطق، إلى جانب أصناف محسنة؛ عن (معلا، حربا، 2005) ، ولحسن الحظ لاتزال هذه العشائر تزرع بمساحات قليلة مثل، ناب الجمل، بلديةحمرا، شيحاني، حماري، سويد...

إن الاستغناء عن زراعة كثير من الأصناف القديمة ، وزراعة أصناف جديدة، محسنة بدلاً منها، ساهم في فقد أصناف، وطرز وراثية عديدة، نتجت من عمليات تطور، وتأقلم مع البيئة المحيطة، على مر العصور. ومن هنا تبرز أهمية حفظ المصادر الوراثية، بشكل يضمن الاستقرار في الإنتاج، ويلبي رغبات المستهلك، ويتيح لمربي النبات انتخاب الصفات المرغوبة (Duvick, 1984). تعد عملية جمع الأصول الوراثية وتقويمها، وحفظها من أولى الخطوات المتخذة في الحفاظ على التنوع الوراثي من الفقد، وإحدى العمليات المهمة لدعم برامج التربية المستقبلية وتطويرها (Fahima *et al.*,1999, Menkir *et al.*,1997). وكانت عمليات تقويم الأصول الوراثية المختلفة، باستخدام المواصفات المورفولوجية، من أوائل المؤشرات المستخدمة في هذا المجال، وذلك لعدد كبير من الأنواع، والأصناف النباتية (Smith.,1984)، و منها القمح (Ellis,1984)، إلا أنه يؤخذ عليها تأثرها بالظروف البيئية(Hatzopoulos *et al.* 2002).

تعد بروتينات التخزين، في القمح، من المؤشرات البيوكيميائية المهمة، في الكشف عن التباينات الوراثية، وقد استخدمت لتقويم الأصول الوراثية المختلفة، وتحديد هوية أصناف رباعية، وسداسية، من القمح.
(Shuaib *et al.*, 2007; Mir Ali 2002 a,b; Redaelli *et al.*, 1997; Payne *et al.*, 1984)
وانتشرت على نطاق واسع لأنها غير مكلفة، وبسيطة، وذات قدرة على الكشف عن التباينات الوراثية بين الأصناف الوراثية المختلفة (Metakovsky & Branlard,1998). واستخدمت، بشكل فعال، في تحديد درجة الخلط، ومعرفة أسبابه، سواء أكان ميكانيكيا أم وراثيا (MirAli, 2000).

وتعرف بروتينات التخزين أنها أي بروتين يتراكم في الحبة، ويتحلل مائياً، ليحرر مكوناته من الأحماض الأمينية، التي تستخدم مصدراً لـ N، من قبل البادرات في أثناء الإنبات، والمراحل الأولى من النمو (Spencer 1984). جدير بالذكر أنه لا يزال تقسيم البروتينات إلى أربع زمر رئيسة، بحسب Osborne منذ بدايات القرن الماضي، مقبولاً إلى حد بعيد. فقد قسمها، بحسب درجة انحلالها في المحاليل المختلفة، إلى أربع مجموعات، الألبومينات، والغلوبيولين، والبرولامين، والجلوتيلين. وتشكل الزمرتان الأخيرتان أهم بروتينات التخزين، في القمح، و تسميان الجليادين، والجلوتينين على التوالي، وحظيت كلتاهما بجانب كبير من الدراسات البيوكيميائية، والوراثية. إذ إن الجليادين مسؤول عن صفة اللزوجة في عجينة الخبز، في حين الجلوتينين مسؤول عن صفة المطاطية (Payne *et al.*, 1984; Mir Ali, 2000). الجليادين هو خليط مزدوج من الببتيدات، وحيدة السلسلة، ذات وزن جزيئي مرتفع، يراوح بين 30000 و 75000 دالتون، في حين الجلوتينين يبلغ وزنه الجزيئي 40 مليون دالتون، وكان (Bietz and Wall.,1972) أول من سجل انقسام الجلوتينين إلى نوعين من تحت الوحدات. الأول هو تحت

الوحدات، ذات الوزن الجزيئي المرتفع High molecular wheight sub units (HMW-GS). والثاني تحت الوحدات، ذات الوزن الجزيئي المنخفضLow molecular wheight sub units (LMW-GS). وذلك بعد معاملته بعامل مختزل (reducing agent) مثل مركبتوايتانول. وتتشكل بروتينات التخزين، في القمح، بشكل عام، من 50%غليادين، و10% HMW-GS، و40% LMW-GS.

أما من الناحية الوراثية؛ فإن المورثات، المسؤولة عن كلتيهما، موثق بشكل جيد، إذ يوجد ستة مواقع غليادين رئيسة، تقع على الذراع القصيرة، لكل من المجموعة الصبغية الأولى 1A و 1B و1D (موقع *Gli-1*)، والسادسة 6A و 6B و6D (موقع *Gli-2*)، إضافة إلى عدد من المواقع الثانوية التي ذكرها كل من Metakovsky et al.(1998) ، و Pogna et al. (1993) .

من ناحية أخرى، تقع HMW-GS على الذراع الطويلة، من المجموعة الصبغية الأولى 1A و 1B و1D (موقع *Glu-1*)، في حين تقع LMW على الذراع القصيرة من المجموعة ذاتها (موقع *Glu-3*) الذي يعتقد أنه مرتبط (linked) بموقع *Gli-1* Pogna *et al.* (1990).

تهدف هذه الدراسة إلى:1) تحديد هوية 38 صنفاً، من أصناف القمح القاسي، و12 صنفاً، من أصناف القمح الطري، التابعة للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية.2) دراسة التنوع الوراثي، والعلاقات الوراثية بين الأصناف، ضمن هذه المجموعة، باستخدام تقنيتي الرحلان الكهربائي A-PAGE(acidic polyacrylamide، gel electrophoresis)المتخصصة في الكشف عن الجليادين، و SDS-PAGE (SDS-poyacrylamide gel electrophoresis) المتخصصة في الكشف عن الجلوتينين للحصول على وصف بيوكيميائي دقيق.

أُجري هذا البحث بالتعاون بين جامعة تشرين، وهيئة الطاقة الذرية، والهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، في الفترة مابين 2006–2007.

طرائق البحث ومواده:

المادة النباتية:

تم الحصول على الأصناف من قسم الحبوب، في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وهي سلالات حوراني محلية، وأصناف محلية، وأصناف معتمدة، إضافة إلى سلالات مبشرة، بحسب الجداول (1) و (2).

الجدول (1) أصناف القمح القاسي وسلالاته: *Triticum Durum*

تسلسل	الصنف	تسلسل	الصنف	تسلسل	الصنف	تسلسل	الصنف
1	حوراني عادي	11	سكلاوي	21	دوما 26823	31	H-5948
2	حوراني نووي	12	شيحاني	22	دوما 18861	32	دوما29019
3	حوراني أيوبية	13	ناب الجمل	23	جدارا 21	33	أزغار1
4	حوراني A	14	رزي	24	دوما20603/بحوث7	34	شام3
5	حوراني B	15	مصيرية A	25	دوما20602	35	شام 1
6	حوراني C	16	بلدية حمراء	26	دوما20014	36	شام5 أبيض

7	حوراني27	17	سوادي	27	أوتوروب	37	شام5 أسود
8	حوراني قصير	18	بياضي	28	أم بيت 1	38	بحوث 5
9	حماري عادي	19	قوقو	29	عين زين		
10	حماري أحمر	20	فرعونيA	30	دوما1105/دوما1		

الجدول (2) أصناف القمح الطري *Triticum Aestivum*

تسلسل	الصنف	تسلسل	الصنف	تسلسل	الصنف	تسلسل	الصنف
B1	بحوث6	B4	سويد 7	B7	قندهاري أحمر	B10	شام 4
B2	سلموني 4	B5	بلدية حمراءB	B8	فلورنس أورور	B11	شام 8
B3	بريجي 1	B6	دوما 2	B9	بحوث 4	B12	قندهاري أبيض

الرمز B1 يدل على الصنف الطري رقم 1،B2 يدل على الصنف الطري رقم 2 وهكذا..

استخلاص الغليادين بطريقة A-PAGE:

تم استخلاص الغليادين بحسب بروتوكول (Bushuk and Zillman 1978)، مع بعض التعديلات الطفيفة. حيث طحن 50 ملغ، من كل من العينات المدروسة، بواسطة جفنات الطحن، ثم نقلت إلى أنابيب أبندورف 2 مل، وأضيف إلى كل أنبوب 3.3، من وزن الحبة (حجم/وزن) كحول تركيز 70%؛ أي مايعادل 165 ميكروليتر. عُرض كل من هذه الأنابيب للرج، على جهاز الرجاج (Vortex)، بمعدل كل 15 دقيقة، ولمدة ساعتين ونصف، ثم بعد ذلك ثفلت لمدة 15 دقيقة، على سرعة 15ألف دورة في الدقيقة، بمثفلة أبندورف. بعد انتهاء عملية التثفيل سحب السائل العلوي من الأنابيب، وترك الراسب، ونقل السائل، من كل عينة، إلى أنابيب جديدة خاصة بكل عينة، وأضيف لكل عينة 85 مكل من الغليسيرين تركيز 60%، ليصبح المزيج جاهزاً للرحلان.

رُحل، من كل عينة، 15 ميكرولتراً، ضمن هلامة أكريلاميد، تركيز 6% قياس (200×220×1مم)، في جهاز الرحلان الكهربائي العمودي، من شركة (BioRad)، بوجود تيار كهربائي 40 ميللي أمبير، لمدة أربع ساعات. كل هلامة كانت تتسع لـ12 عينة إضافة إلى 3 عينات، من الصنف الشاهد الكندي ماركيز، إذ حقن في أول الهلامة، وآخرها، ومنتصفها. يعطي هذا الصنف، عند ترحيله، عدداً من الحزم، أكثرها وضوحا وتميزا هي الحزمة التي تقع في منتصف المسافة، التي تبلغ حركيتها النسبة (Relative mobility)، المعرفة ب Rm 50، بحسب Bushuk & Zillman (1978)، وبناءً على هذه القيمة؛ فقد تم حساب الحركية النسبية، لباقي الحزم الناتجة عن ترحيل الأصناف المدروسة بجهاز الرحلان الكهربائي.

استخلاص الجلوتينين بطريقة SDS-PAGE:

استخلص الغلوتينين بحسب طريقة Laemmli (1970) المعدل من قبل Payne *et al.* (1981) حيث استخلص من عينة طحين، بوزن 40 ملغ، وأضيف إليه محلول استخلاص، يحتوي على SDS 2% وزن/حجم، 2- مركبتوايتانول (عامل مختزل)، 5% وزن/حجم، بيرونين 0.001% وزن/حجم، جليسيرول 10% حجم/حجم، مادة Tris-HCl (pH 6.8). تركت العينات المنقوعة لمدة 90 دقيقة؛ في درجة حرارة الغرفة، مع مراعاة الرج كل 15

دقيقة، ثم وُضعت في ماء مغلي، لمدة دقيقة ونصف، وثقلت في مثقلة ابندورف، على سرعة 15000دورة/الدقيقة لمدة 15 دقيقة، لتصبح جاهزة للترحيل على هلامة أكريلاميد تركيز 10%، إذ حمل من كل عينة 15 ميكرولتراً ضمن كل بئر. وذلك ضمن جهاز الرحلان الآنف الذكر، مع مراعاة تشغيل الجهاز على تيار 25 ميللي أمبير لمدة 14–16 ساعة.

التحليل الإحصائي:

أُحصيت نتائج تحليل بروتيني التخزين (Glutenin,Gliadin) في جداول خاصة بكل منها، اعتماداً على وجود حزم البروتين المرحلة أو عدم وجودها. حيث رمز لوجود الحزمة بالرقم 1، ولعدم وجودها بالرمز 0،

استُخدم البرنامج NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) (Rohlf, 1992). في حساب معامل التشابه الوراثي (Jaccard, 1908) Jaccard genetic similarity coefficient ، وذلك بحسب المعادلة GS(ij)=1-[a/(a+b+c)]

حيث: GS(ij) هي درجة التشابه بين الفرد j والفرد i. a عدد حزم البروتين في الفردين، b و c عدد الحزم الموجودة، بشكل منفرد، في أحد الفردين.

بعد ذلك وضع مخطط التحليل العنقودي Cluster analysis، ورسمت شجرة القرابة الوراثية، التي توضح التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة، بطريقة المتوسط الحسابي، للمجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA).

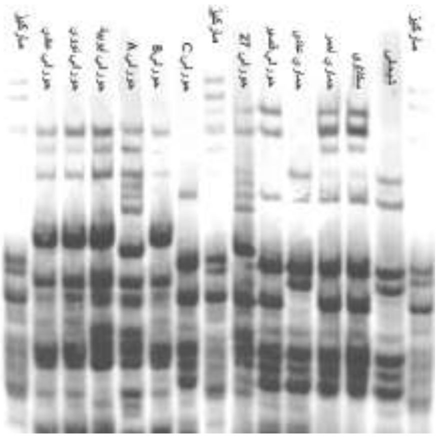
النتائج:

أولاً: نتائج التحليل بتقنية A-PAGE:

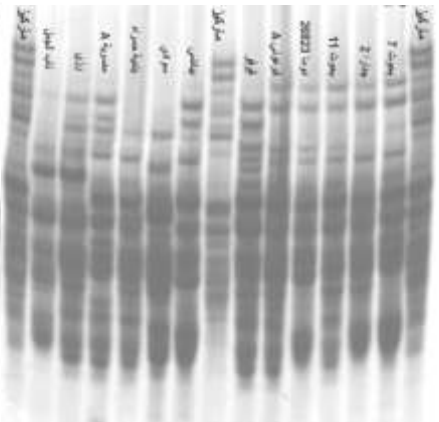
تم فصل الجليادين إلى أربع مجموعات منفصلة؛ اعتماداً على الحركية النسبية (RM)، للحزم المنفصلة، كما يلي:

1– ω أوميغا جليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM أعلى من 39.
2– γ غاما جليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين 40–56.
3– β بيتا جليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين 57–68.
4– α ألفا جليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين 69–80.

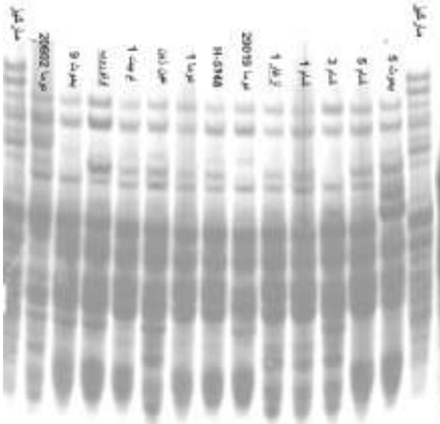
بناءً على هذا التقسيم، فقد كان عدد الحزم، الناتجة عن تحليل 13 حزمة متباينة، تم إحصاؤها في المنطقة أوميغا، ألفا جليادين، وذلك لوضوحها وتباينها، وتم حساب الحركية النسبية لها، بناءً على الحزمة المرجعية، للصنف ماركيز، الموجودة بمنتصف مسافة الرحلان، التي تبلغ حركيتها النسبية 50. لوحظ اختلاف في تكرارية الحزم بين الأصناف المدروسة، فقد تراوح تكرار الحزم من مرة واحدة (unique)، أي أنها ظهرت مرة واحدة في صنف واحد كالحزمة رقم (1).



شكل(1)



شكل (2)



شكل (3)

التي ظهرت في الصنف الطري سلموني، أما الحزم الثنائية التي تكررت مرتين فهي الحزمة (10) التي ظهرت في السلالتين القاسيتين حوراني A، و حوراني 27، و تظهر الأشكال الثلاثة 1 و2 و3 نواتج فصل الأصناف المدروسة، من القمح القاسي، باستخدام تقنية A-PAGE

من ضمن الحزم الـ 13 المتباينة كانت هناك ثلاث حزم، ظهرت ضمن الأصناف الطرية فقط، وهي الحزم 1 و 2 و 3، في حين كانت الحزمة رقم 10 خاصة بالقمح القاسي.

ويظهر الجدول (3) الحركية النسبية، لكل من الحزم الناتجة، و تكرار الحزم المتباينة، ضمن الأصناف المدروسة، بتقنية A-PAGE ، مرتبة تسلسلياً بحسب نسبة تكرارها.

الجدول (3) الحركية النسبية لكل من الحزم الناتجة، و تكرار الحزم المتباينة ضمن الأصناف المدروسة، بتقنية A-PAGE ، مرتبة تسلسلياً بحسب نسبة تكرارها.

رقم الحزمة	RM	تكرار	الأصناف القاسية	الأصناف الطرية
Reference	50	1		مركيز
1	16	1		سويد
2	17	12		أصناف الطري كلها
3	20	12		أصناف الطري كلها
4	21	27	حوراني(27،قصير)،حماري أحمر، سكلاوي،فرعوني A ، دوما 26823، دوما 18861، جدارا 21، بحوث7، دوما20602، دوما20014، أوتوروب، أم بيت 1، عين زين، دوما1، -H 5948، دوما29019، أزغار1، شام3، شام 1،،شام5،بحوث5	سلموني،بريجي،بلديةحمرا،قندهاري أحمر،قندهاري أبيض.

5	26	36	حوراني(عادي،نووي،أيوبية،B،A)،حماري عادي،شيحاني، فرعوني A ، دوما 26823، دوما 18861، أوتوروب، أم بيت 1، عين زين، دوما1، H-5948، أزغار 1، شام3، شام5،بحوث5	بحوث6، سلموني4،بريجي1، قندهاري أحمر ،قندهاري ابيض.
6	28	16	حوراني (عادي،نووي،أيوبية،A)، حماري أحمر ،سكلاوي،رزي،مصيريةA،بياضي،قوقو ،دوما ،20602،	سلموني، بريجي،سويد،قندهاري أحمر،ندهاري أبيض
7	29	9	رزي، مصيريةA،بلدية حمراء،سوادي،دوما 20602،	بريجي، بلدية حمرا، دوما 2،شام8
8	32	30	حوراني (عادي،نووي،أيوبية،B،A)،حماري عادي، فرعوني A ، دوما 26823، دوما 18861،، أوتوروب، أم بيت 1، عين زين، دوما1، H-5948، أزغار 1، شام3، شام5،بحوث5	أصناف الطري كلها.
9	42	12	حوراني (عادي،نووي،أيوبية،B)،ناب الجمل،رزي،	بحوث6، سلموني،سويد،بلدية حمرا، قندهاري أحمر ، قندهاري أبيض
10	43	2	حوراني (A,27)،	
11	45	32	حورانيC،حوراني قصير ،حماري(عادي،أحمر)،سكلاوي،شيحاني،بياضي، قوقو، فرعوني A ، دوما 26823، دوما 18861، جدارا 21، بحوث7، دوما20602، دوما20014، أوتوروب، أم بيت 1، عين زين، دوما1، H-5948، دوما29019، أزغار 1، شام3، شام 1،شام5،بحوث5	سلموني،بريجي،بلدية حمراء، قندهاري أبيض
12	42	9	حوراني (عادي،نووي،أيوبية،B،A)،حماري عادي،شيحاني،سوادي	بحوث4
13	51	36	حوراني (عادي،نووي،أيوبية،C،A27،قصير)،)، حماري أحمر ، سكلاوي،ناب الجمل،رزي،مصيريةA،بلدية أحمر ،،بياضي،قوقو ، فرعوني A ، دوما 26823، دوما 18861، جدارا 21، بحوث7، دوما20602، دوما20014، أوتوروب، أم بيت 1، عين زين، دوما1، H-5948، دوما29019، أزغار 1، شام3، شام 1،شام5،بحوث5	سلموني،بريجي،بلدية حمرا،قندهاري أبيض

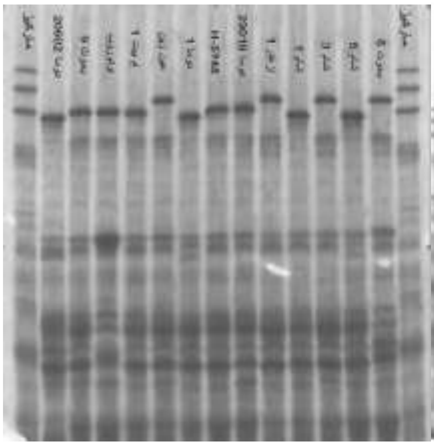
أما بالنسبة لتقنية الـ SDS-PAGE فقد نتج عن فصل بروتين الجلوتينين نوعان من الحزم، أو مايسمى بتحت الوحدات للجلوتينين Glutenin subunit. الأولى ذات وزن جزيئي مرتفع، وتدعى high molecular wheight، والثانية ذات وزن جزيئي منخفض، وتسمى low molecular weight. إذ بلغ العدد الكلي لـ HMW-GS12حزمة متباينة، مشتركة بين الأصناف القاسية والطرية، عدا الحزم 3 و4 و9 التي ظهرت فقط في الأصناف الطرية.

الجدول (4) يظهر عدد الحزم الناتجة عن فصل الجلوتينين، والأصناف الموجودة فيها؛ إضافة إلى تكرار كل حزمة ضمن الأصناف.

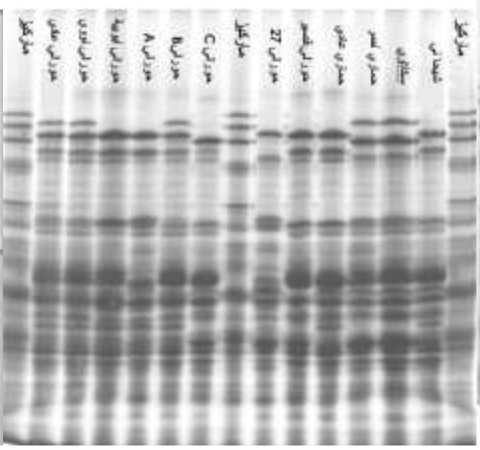
الحزمة	تكرارها	الأصناف القاسية التي تحملها	الأصناف الطرية
1	1	ناب الجمل	دوما2
2	5	حوراني(عادي،نووي،B)،حماري أحمر ،سكلاوي،	بحوث6،سلموني،بريجي،سويد، بلديةحمرا،قندهاري،شام4،قندهاري أبيض.
3			دوما2،قندهاري أحمر ،فلورنس أورور ،بحوث4، شام8، قندهاري أبيض.
4			دوما2، فلورنس أورور ، بحوث4، شام8.
5	15	حوراني(عادي،نووي،أيوبيةA،B،27،*قصير)حماري عادي.شيحاني،بلدية* حمراء،بحوث7،عين زين،أزغار1،شام1،بحوث5	سلموني،بريجي،سويد ،بلديةحمرا، دوما2،قندهاري أحمر ،شام4، شام8.
6	13	حورانيC،حماري(عادي،أحمر)،ناب الجمل،رزي،قوقو ،دوما26823، جدارا2،دوما20014،أوتوروب،أم بيت1،-H 5948،دوما29019.	قندهاري أحمر ، قندهاري أبيض
7	9	مصيريةA،سوادي،بياضي،قرعوني،دوما26823، دوما20602،ددوما1،شام3،شام5.	بحوث6،بلديةحمرا،بحوث4، شام4.
8	9	حوراني(عادي،نووي،أيوبيةA،B،C،قصير)حماري عادي،شيحاني.	بحوث6،بريجي،فلورنس أورور ،شام4، قندهاري أبيض.
9			سويد، بلدية حمرا، قندهاري أحمر ، قندهاري أبيض.
10	5	حوراني(B،27)،حماري أحمر ،سكلاوي،سوادي.	بحوث6، سلموني،دوما2،فلورنس أورور ، بحوث4.

11	31	حوراني(عادي،نووي،أيوبية،قصير (حماري(عادي،أحمر)، سكلاوي،شيخاني، ناب الجمل ،رزي مصيريةA،بياضي،فرعوني،قوقو ،دوما26823،دوما 18861،جدارا2،بحوث7،دوما20602،دوما20014 ،أوتوروب،أم بيت،عين زين،دوما1، H-5948،شام1،شام5،بحوث5. ،دوما29019،أزغار1،شام3	دوما2
12	35	حوراني(عادي،نووي،أيوبيةC،B،A،قصير)، حماري(عادي،أحمر)،سكلاوي،شيخاني، ناب الجمل ،رزي ،بلدية حمرا،سوادي،قوقو ،دوما26823،دوما18861،جدارا2، بحوث7،دوما20602، دوما20014،أوتوروب،أم بيت،عين زين،دوما1، H-5948 ، دوما29019، أزغار1،شام3،شام1،شام5،بحوث5.	بحوث6، سلموني،بريجي، سويد، بلدية حمرا، قندهاري، شام4،قندهاري أبيض.

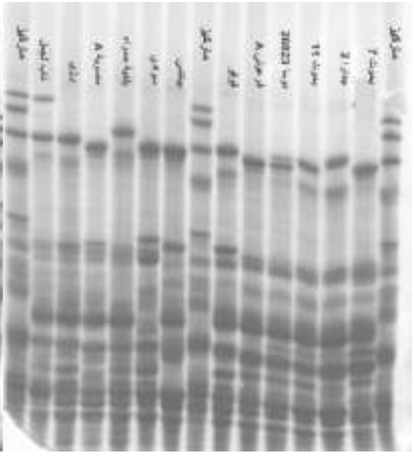
تظهر الأشكال 4 و 5 و 6 نواتج الفصل للجلوتينين في الأصناف الرباعية



شكل (6)

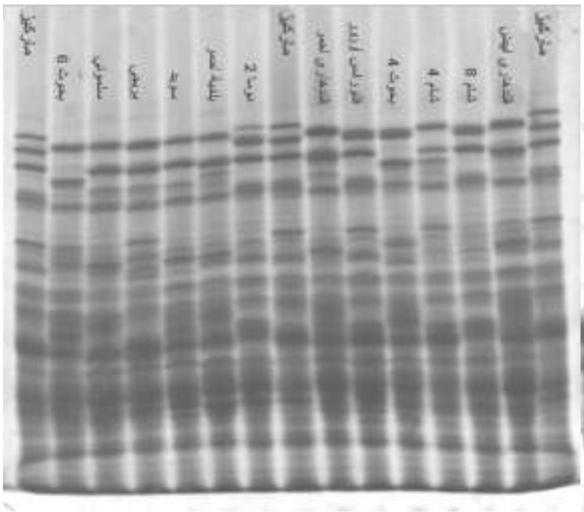


شكل (5)

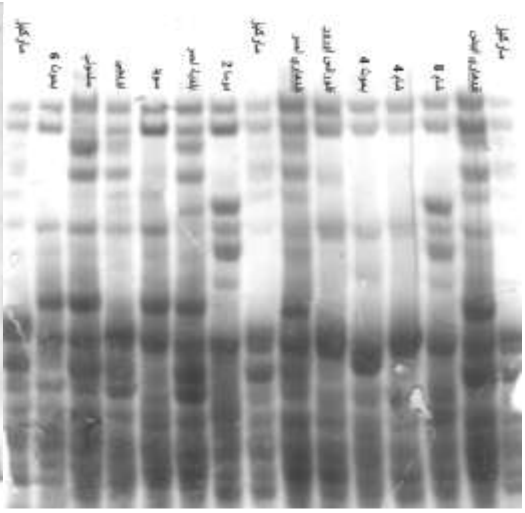


شكل (4)

و يظهر الشكلان 7 و 8 نواتج فصل الغليادين، والجلوتينين، على التوالي، لأصناف القمح السداسية المدروسة.

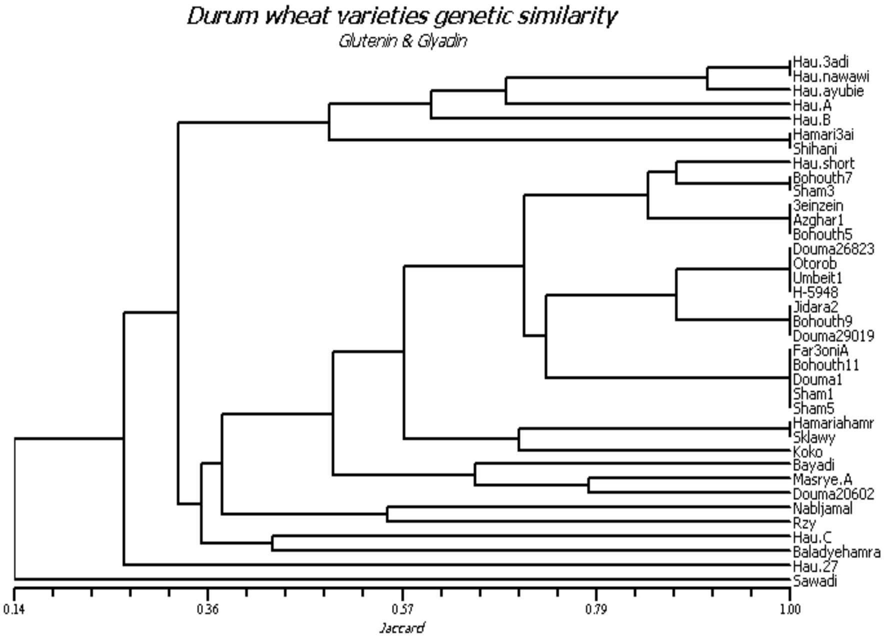


شكل(8)

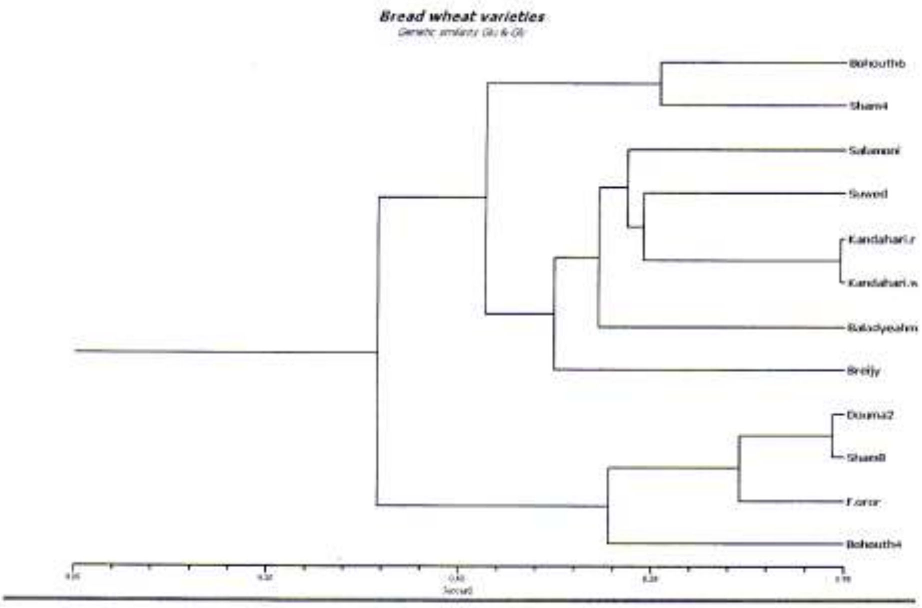


شكل(7)

جمعت البيانات الناتجة عن التقنيتين، وكان العدد الكلي للحزم 25 حزمة متباينة وبعد أن تم إدراجها ضمن البرنامج الإحصائي، ظهرت لدينا الشجرة الوراثية، لكل من أصناف القاسي (شكل 9)، والقمح الطري (شكل10)، ثم الشجرة الوراثية، للأصناف الطرية، والقاسية معاً، ضمن مخطط واحد (شكل 11)، التي تظهر التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة، ومجموعات الفصل التي ضمت الأصناف المدروسة، بحسب القرابة الوراثية لها، بناءً على مجمل بيانات التقنيتين.



الشكل (9) مخطط التحليل العنقودي للعلاقات الوراثية (Phylogenetic) بين الأصناف القاسية المدروسة، باستخدام معامل Jaccard، للتشابه الوراثي، استنادا إلى بيانات تقنيتي A-PAGE و SDS-PAGE



الشكل (10) مخطط التحليل العنقودي للعلاقات الوراثية (Phylogenetic) بين الأصناف الطرية المدروسة، باستخدام معامل Jaccard للتشابه الوراثي استنادا إلى بيانات تقنيتي A-PAGE و SDS-PAGE.

الشكل (11) مخطط التحليل العنقودي للعلاقات الوراثية (Phylogenetic) بين الأصناف الطرية، والقاسية المدروسة، باستخدام معامل Jaccard، للتشابه الوراثي استنادا إلى بيانات تقنيتي A-PAGE و SDS-PAGE.

المناقشة:

يحتوي القمح الرباعي المزروع *Triticum durum* Desf كما هو معروف، على المجموعتين الصبغيتين (Genome) A B، ويحتوي القمح السداسي (*Triticum aestivum* L.) على ثلاث مجموعات صبغية A, B, (D). ولقد دلت الدراسات الوراثية أن المورثات المسؤولة عن بروتينات التخزين ذات سيادة مشتركة (Mechan *et al.*,1978; payne *et al.*,1981a; payne1987; Gupta and Shephered 1990a).

ويعتقد أن التباينات الوراثية، داخل كل موقع وراثي، هي المسؤولة عن التباينات بين الأصناف، فيما يتعلق بنوعية البروتين، التي يعبر عنها بظاهرة (Gene silencing)، أو المورثات التي لم تعبر عن نفسها(الصمت الجيني) (MirAli *et al.*,1999 a,b; Payne *et al.*,1981, 1984).

وبالعودة إلى نتائج هذا البحث، نجد أن الحزم الناتجة عن استخدام تقنية A-PAGE كانت 13حزمة، تم إحصاؤها من المنطقة ω أوميغا جليادين، وγ غاما جليادين فقط، لصعوبة الحزم وعدم وضوحها، في المناطقβ بيتا جليادين و α ألفا جليادين. وهذا يعكس نسبة لابأس بها من التباينات الوراثية، ضمن هذه المواقع، وهذا ماعبر عنه (Pogna *et al.*,1993)؛ حينما أقر بوجود من 3−10 مورثات نشطة، ضمن كل موقع من مواقع الجليادين *Gli-1* (loci). وذكر (1978) Mechan *et al.*, و Sozinov and Poperelya (1980) أنه يتم توريث الغليادينات بمجموعات مرتبطة، وعلى كل من هذه المواقع مدى واسع من الألليلات.

أما بالنسبة لتقنية SDS-PAGE، فمن الناحية النظرية يمكن أن يحتوي القمح الطري على ست تحت وحدات HMW-GS. وقد تم تسجيل بعض الأصناف السداسية التي تحتوي منطقة HMW فيها على ست وحدات أورد كل من (1996) ,Margiotta *et al.*, (1993) ,Johansson *et al.*، ولكن في الغالبية العظمى من الحالات يظهر 3−5 تحت وحدات فقط، بسبب وجود ظاهرة (Gene silencing)، أو المورثات التي لم تعبر عن نفسها؛ كما ذُكر سابقاً.

في دراستنا هذه، بلغ عدد تحت الوحدات الكلية المتباينة HMW-GS 12، بمعدل من 3−5 تحت وحدات، لكل صنف، سواء الأصناف الطرية أم القاسية. وهذه النتيجة تتفق مع ما وجده (MirAli., *et al.*, (1999a على الأقماح الطرية السورية، إذ راوحت تحت الوحدات بين 4−5 لكل صنف. أما في الأقماح القاسية، التي تفتقر إلى الجينوم D، فإن العدد النظري هو 4، ووجد (Mir Ali., *et al.*, (1999b، في دراستهم على الأقماح القاسية السورية، أن عدد الحزم الكلي، في منطقة HMW-GS، تراوح بين 2−3 للصنف الواحد، نظرا لوجود المورث، غير المعبر عن نفسه، على الجينوم A، في نسبة لا بأس بها، من الأصناف. جدير بالذكر أن الصنف القاسي، ناب الجمل، قد تفرد بوجود تحت وحدة عالية الوزن الجزيئي، و ذات درجة ترحيل نسبية قليلة، بشكل يمكن أن يحدث التباسا بأنه يتبع الأقماح السداسية الطرية، التي غالبا ما يوجد لديها تحت حزم، على نفس درجة الترحيل هذه، التي تعزى لوجود الجينوم D. الجدير ذكره أن الأقماح البرية الرباعية، التي تفتقر أيضا إلى الجينوم D، تمتلك تحت حزم مشابهة بالوزن الجزيئي فُقدت من الأقماح الرباعية الحديثة، بفعل عمليات التربية، ونجم عن ذلك انخفاض بنسبة البروتين، رافق زيادة الإنتاجية، بشكل عام (MirAli., 1987). لذلك نعتقد أن هذا الصنف لا يزال يحمل هذا الألليل من الأسلاف البعيدة.

أما شجرة القرابة الوراثية، الناتجة عن مخطط التحليل العنقودي، للأصناف الرباعية، فنجد أن الأصناف قد فُصلت عن بعضها، وأُدرجت ضمن ثلاثة عناقيد:

الأول: ضم أقل عدد من الأصناف القاسية الرباعية، وهي: حوراني عادي، حوراني نووي، حوراني أيوبية، حوراني A، حوراني B،حماري عادي، شيحاني.

الثاني: ضم العدد الأكبر من الأصناف (24 صنفاً)، حوراني قصير، بحوث7،شام3،عين زين، أزغار1، بحوث5، فرعوني،بحوث11دوما1،شام1،شام 5، دوما 27823، أوتوروب، أم بيت، H-5948، جدارا 2، بحوث9،دوما29019،حماري أحمر،سكلاوي، قوقو.

الثالث: ضم الأصناف الأكثر تنوعاً ضمن المجموعة المدروسة، إذ شكل كل صنف نموذجاً خاصاً منفرداً. وبلغ عدد الأصناف، ضمن هذا العنقود، 8، وهي مصيريةA، دوما 20602،بياضي،ناب الجمل، رزي، حوراني C،بلدية حمرا،حوراني 27.

أما الأصناف التي تحمل نماذج (Patterns)، متطابقة مع غيرها من الأصناف، فقد وُجدت بأعلى نسبة لها، ضمن العنقود الثاني، إذ بلغ عددها 6 نماذج متطابقة، وهي مابين الأصناف الآتية: نموذج1 (بحوث7وشام3)،نموذج 2(عين زين، و أزغار1، وبحوث 5)، نموذج3 (فرعوني، وبحوث 11، و دوما1، وشام1، وشام5)، نموذج 4 (دوما26823، و أوتوروب، و أم بيت، و H-5948)، نموذج 5 (جدارا2، و دوما بحوث9، ودوما 29019) ، نموذج 6 (حماري أحمر، و سكلاوي).

أما العنقود الأول فقد ضم نموذجين، كل نموذج ضم صنفين متطابقين، الأول نموذج 7 (حوراني عادي، وحوراني نووي)، الثاني نموذج 8 (حماري عادي، و شيحاني) . وبهذ يبلغ عدد النماذج الناتجة عن عملية الرحلان الكهربائي، باستخدام تقنيتي A-PAGE، و SDS-PAGE ، 21 نموذج رحلان، من أصل 38 صنفاً، إذ أعطى 13 صنفا نماذج رحلان مفردة، متغايرة، مميزة، لكل صنف، على حدة، أي إن نسبة التنوع الوراثي 56%. تعكس هذه النتيجة نسبة من التنوع الوراثي، لابأس بها، قياساً بما حصل عليه (Wei *et al.*, 2000)، عندما وجد أن نسبة النماذج المتطابقة كانت 87 من أصل 89، أي نسبة النماذج المتطابقة 97.8%، وهي نسبة كبيرة قياساً بنسبة النماذج المتطابقة في هذه الدراسة، وهي38%.وهذا يعكس ارتفاع نسبة التنوع في الأصناف المدروسة.

وبالعودة إلى النماذج المتطابقة، في العنقود الثاني، نجد أن النموذج الأول ضم الصنفين المحسنين، بحوث 7، وشام 3، والنموذج الثالث ضم 4 أصناف محسنة، وصنفاً محلياً واحداً (فرعوني)، وربما يعود سبب انخفاض نسبة التنوع، بين الأصناف المحسنة، إلى أن الانتخاب، من قبل المربين، كان يتم من أجل صفات متشابهة، وهذا جعل المسافات الوراثية بينها قليلة، أو معدومة، أي أنها كانت تعطي تطابقاً في تحت وحدات الجلوتينين، والجليادين، وهذا ماوجده كل من (Fufa *et al.*, 2005; Shuaib *et al.*,2007). إذ أقر الأول أن التنوع الوراثي، بالاعتماد على بروتينات التخزين، كان الأقل، وفسر هذا بأن الصفة المنتخبة كانت لبروتينات التخزين، وهي صفة استخدمت، بشكل كبير، في عمليات الانتخاب، ضمن برنامج التربية. هذه النتيجة أكدها (Baenziger *et al.*,2001)، إذ ذكر أن إجراءات التربية الجديدة قد أدت إلى انخفاض مستوى التنوع الوراثي، في الأصناف المحسنة، وخاصة إذا كانت الصفة كيفية qualitative trait، أي إن المورثات المسؤولة عن توريثها قليلة. أما وجود الأصناف المحلية، مع الأصناف المحسنة، ضمن النموذج المتطابق نفسه، فقد يعود ذلك للخلط الميكانيكي بين بذور الأصناف في أثناء الحصاد، أو أثناء نقل البذار وتوزيعه، ستتم دراسته لاحقا، لتأكيد وجود خلط، أو عدم وجوده، و نوعية هذا الخلط؛ سواء أكان وراثيا أم ميكانيكياً، كما بين (2000) MirAli.

أما النموذج الذي يحوي سلالات حوراني، متطابقة نتائج الرحلان الكهربائي، فهي نتيجة طبيعية ومنطقية، إذ إن سلالات الحوراني كلها منحدرة من أب واحد، ولهذا فإن التشابه الوراثي بينها مرتفع. وفي الحقيقة؛ إذا عدنا إلى المخطط السابق نجد أن سلالات االحوراني قد جُمعت كلها ضمن عنقود واحد، عدا الصنف حوراني C، والصنف حوراني 27، الذي كان الصنف الأكثر بعداً عن أصناف القمح القاسي الباقية كافة. يعود سبب هذا البعد الوراثي إلى تطبيق الانتخاب الفردي على الصنف الأصلي حوراني، الذي يعتبر land race، و يتألف من سلالات عدة مختلفة وراثياً، سواء في الخصائص الإنتاجية، أو في محتوى الحبوب من البروتين، ضمن برامج التربية، في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية (معلا، حلواني 1987).

لوحظ أيضاً، ضمن المخطط، وجود قرابات وراثية بين بعض الأصناف المحلية، والأصناف المحسنة، ويُفسر هذا بأن الأصناف المحسنة هي أصناف منحدرة من السلالات المحلية، ولوجود تهجينات فيما بينها.

وبالانتقال إلى الشكل (10) الذي يظهر شجرة القرابة بين الأصناف الطرية، نجد أن نسبة التباين الوراثي، بين الأصناف الطرية، هي أعلى من مثيلتها بين أصناف القمح القاسي. فعلى الرغم من أنه هناك مسافة وراثية قليلة جداً بين الصنفين قندهاري أبيض، وقندهاري أحمر، اللذين يختلفان فيما بينهما بحزمة واحدة فقط، إلا أننا نجد أن كل صنف قد أعطى نموذج رحلان خاصاً به، ولهذا فقد كانت نسبة التنوع الوراثي، ضمن الأصناف الطرية، 100%، هذه النتيجة مشابهة للنتيجة التي حصل عليها Mir Ali (2000) ، عندما درس مستوى التنوع الوراثي ضمن أصناف قاسية، وطرية قديمة، ومحسنة، سورية، باستخدام نفس التقنيتين، ووجد أن أعلى نسبة للتباين كانت في الصنفين الطريين شام4 ومكسيباك. أما الشكل الأخير (11) الذي يظهر شجرة القرابة التي تضم الأصناف كاملة؛ الطرية، والقاسية، فنجد انفصال الأصناف الطرية في عنقود مستقل، وطرفي، عن العنقود الكبير الذي يضم الأصناف القاسية. وهذا الانفصال يعود لوجود المجموعة الصبغية D، المتفردة في الأصناف الطرية، التي تم التعبير عنها عملياً، بوجود الحزم الثلاث الأولى الخاصة بالجليادين، والحزمة التاسعة الخاصة بالجلوتينين. أما القرابة الوراثية بينها (الطرية والقاسية) فتعود لوجود المجموعتين الصبغيتين المشتركتين بينهما A و B.

في النهاية نجد أن استخدام بروتينات التخزين هي مؤشر مفيد لوصف الأصناف، ودراسات التنوع الوراثي، وتسجيل أصناف جديدة، واختبارات النسب، إلا أنه ينصح بتدعيم هذه الدراسة بدراسات، تعتمد على مؤشرات أخرى؛ كمؤشرات DNA، والمؤشرات المورفولوجية، وهذا يؤدي إلى زيادة فعالية برامج التربية للقمح، وصدقيتها.

المراجع:

1- معلا،محمد يحيى، حربا، نزار. *تربية المحاصيل الحقلية*، مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، جامعة تشرين. 2005.

2- معلا، محمد يحيى، حلواني، هناء. *أمكانية الأنتخاب للصفات الأنتاجية والنوعية معاً عند بعض أصناف القمح المحلية* . أسبوع العلم السابع والعشرون، دمشق،1987.

3-BAENZIGER, P. S; SHELTON, D.R; SHIPMAN M.J. and GRAYBOSCH. *Breeding for end-use quality: Reflection on the Nebraska experience.* Euphytica, . 2001, 119:95-100

4-BIETZ, J. A.; and WALL, J. S. *wheat gluten subunits:Molecular weights determined by sodium sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis*. Cereal Chem. 1972, 49:416-430

5-BUSHUK, W. and ZILLMAN, R.R. *Wheat cultivar identification by gliadin electro-phoregrams. I. Apparatus, method, and nomenclature*. Canadian Journal of Plant Science, 1978, 58, 505–515.

6-DUVICK, D.N. *Genetic diversity in major farm crops on the farm and in reverse*. Economic Botany,1984, 38, 161-178.

7-Ellis, J.R.S., *The cereal grain trade in the united kingdom the problem of cereal vaiety*. Phil. Trans. *R. Soc. Lond. B* V, 1984, 304:395-407.

8-Fahima, T; Sun, G.L; Beharay, A.; Krugman, T; Beiles, A.; Nevo, E. *RAPD Polymorphism of wild emmer wheat populations, Triticum dicoccoides*. Theoritical and applied genetic, 1999, 98:v434-447

9-Fufa, H; Baenziger, P. S; Beecher, I; Dweikat, V; Graybosh, R. A.; Eskridge K. M.. *Comparison of phenotypic and molecular marker-based classification of hard red winter wheat cultivars*. Euphytica, 2005, 145:133-146.

10- GUPTA, R. B; and SHEPHERED, K. W. *Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. I. variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats*. Theo. App. Genet, 1990a, 80:65-74.

11- HATZOPOULOS, P; BANILAS G; GIANNOULIA K; GAZIS F; NIKOLOUDAKIS N; MILIONI D; and HARALAMPIDIS K. *Breeding, molecular markers and molecular biology of the olive tree*. Eur J Lipid Sci Technol, 2002, 104:574–586.

12- JACCARD, P.. *Nouvelles recherches sur la distrubition florale.* Bull Soc Vaud Sci Nat 44, 1908, 223-270

13- JOHANSSON, E; HENRIKSSON, P; SVENSSON, G; and HENEEN, W.K. *Detection, chromosomal location and evaluation of the functional value of a novel high M_r glutenin subunit found in swedish wheats*. J. cereal Sci. 17, 1993, 237-245.

14- LAEMMLI, U.K. *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. Nature. 227, 1970,680-685.

15- MARGIOTTA, B; URBANO, M.; COLAPRICO, G; JOHANSSON, E; BUONOCORE, F; D'OVIDIO, R; and LAFIANDRA, D. *Detection of Y type subunit at the Glu-A1 locus in some Swedish bread wheat lines* J. Cereal Sci. 23, 1996, 203-211

16- MECHAN, D. K; KASARDA, D. D; and QUALSET, C.O. *Genetic aspects of wheat giadin proteins*. Biochem. Genet. 16, 1978, 831-853.

17- MENKIR, A; GOLDSBROUGH, P; and EJETA, G. RAPD based assessment of genetic diversity in cultivated races of Sorghum. Crop Sciences, 37, 1997, 1191-1199.

18- METAKOVSKY, E.V and BRANLAND, G. *Genetic diversity of French common wheat germplasm based on gliadin allelles*. Theoritical and Applied genetics. 96, 1998, 209-218.

19- MIR ALI, N. *Protein improvement in Triticum Turgidum Var, durum (DESF.) bu induced mutations and hybridization with Triticum Tugidum Var. dicoccoides (Korn*). *Ph.D Thesis*. The University of New Castle, U.K. 1987, 262.

20- MIRALI, N.,. *Heterogenity within old and modern durum and bread wheat grown in Syria using the A-PAGE and SDS-PAE electrophoresis techniques*. Plant varieties & seeds, 13, 2000,149-157.

21- MIRALI, N., ARABI, M.I.E. AND AL-SAFADI, B. *High molecular weight glutenin subunits composiyion of Syrian-grown bread wheat and its relationships with gluten strength.* J Genetics & Breeding, 53, 1999a ,237-245.

22- MIRALI, N; ARABI, M.I.E. and AL-SAFADI, B. *Frequencies of high and low molecular weight gluteninsubunits in durum wheat grown in Syria*. Cereal Research Communications. 27, 1999b, 301-305.

23- MIRALI, N. *Gliadins composition and cluster analyses of Syrian grown durum wheat.* Plant Breeding & Seed Science. 46, 2002a, 51-62

24- MIRALI, N. *Cluster analysis of Syrian grown bread wheat genotypes based on gliadin composition*. J.Genet.& Breed. 56, 2002b,177-183.

25- OSBORNE, T.B. *The proteins of the wheat kernel*. Carnegie Inst., Wash. Publ. No. 84, 1907.

26- REDAELLI, R. P. K;. NG W; POGNA N. E. *Allelic variation at the storage protein loci of 55 US-Grown white wheats*. Plant breeding. 116, 1997, 429-436.

27- ROHLF, F. J. NTSYS-PC: *numerical taxonomy andmultivariate analysis system version* 1.70.state University of New York, Stony Brook N. Y., USA., 1992.

28- PAYNE, P.I; CORFIELD, K.G;, HOLT, L.M. and BLACKMAN, J.A.. *Correlations between the inheritance of certain high molecular weight subunits of glutenin and bread making quality in progenies of six crosses of bread wheat*. Journal of Science of Food and Agriculture 32, 1981, 51–60.

29- PAYNE, P. L; HOLT, L. M; JACKSON, E. A;. LAW, C. N. *Wheat storage proteins:their genetics and their potential for manipulation by plant breeding*. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 304, 1984, 359-371.

30- PAYNE, P. L; NIGHTINGALE, M. A; KRATTIGER, A. F and HOLT, L. M. *The relationship between HMW glutenin composition and the breamaking quality of British grown wheat varieties*. J. Sci. Food Agri. 40, 1987,51-65.

31- POGNA, N.E; AUTRAN, J.C; MELLINI, F; LAFIANDRA, D. and FEILLET, P. *Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: genetics and relationship to gluten strength*. Journal of Cereal Science. 11, 1990,15–34.

32- POGNA, P. E; METAKOVSKY E. V; REDAELLI. R;. RAINER F; DACHKEVITCH T. Recombination mapping of Gli-5, a new gliadin-coding locus on chromosomes 1A and 1B in common wheat. Theor.and A ppl. Genet.87, 1993, 359-371.

33- SPENCER, D. and BOULTER, D. *The Physiological Role of Storage Proteins in Seeds.* Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, . 304, , No. 1120, Seed Storage Proteins. 1984, 275-285.

34- SHUAIB, M; ZEB, A; ALI, Z; ALI, W; AHMAD, T and KHAN, I. *Characterization of wheat varieties by seed storage protein electrophoresis.* African Journal of Biotechnology. 6 (5), 2007, 497-500.

36- SMITH, J, S. C; *Genetic variability within U.S hybrid maize: multivariate analysis of isozyme data*. Crop science. 24, 1984, 1041-1046.

35- SOZINOV, AA and POPERELYA, F,A. *Genetic classification of prolamines and its use for plant breeding*. Ann Tech Agric. 29, 1980, 229-245.

36 – WEI, YM; ZHENG, YL; LIU, DC; ZHOU, YH; LAN, XJ. Gliadin and HMW-glutenin variations in *Triticum turgidum* L. ssp. *Turgidum* and T. *aestivum* L. Landraces native to Sichuan, China. Wheat information service. 90, 2000, 13-20.