مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (30) العدد (3) 2008
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (30) No. (3) 2008

تحديد مقدرة تقنيتي الرحلان الكهربائي A-PAGE وSDS-PAGE على الكشف عن حالة عدم التجانس الوراثي ضمن بعض أصناف القمح القاسية والطرية

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

(تاريخ الإيداع 3 / 4/ 2008. قبل للنشر في 2008/6/16)

□ الملخّص □

دُرست الاختلافات الوراثية داخل ثلاثة أصناف من القمح الطري وثلاثة من القمح القاسي. حُلل من كل صنف 48 حبة بطريقتي الرحلان الكهربائي A-PAGE وSDS-PAGE. أظهرت النتائج وجود تغاير وراثي في جميع المواقع لكل من الغليادين والغلوتينين في جميع الأصناف باستثناء مواقع الغلوتينين للصنفين الطريين بحوث6 وسويد. كانت الاختلافات في مواقع الغليادين أكبر منها في مواقع الغلوتينين.ضمن مجموعة الغليادين كان موقعا ω (أوميغا) و γ (غاما) غليادين الأعلى تغايرا تلاهما موقعا β (بيتا) غليادين ثم α (ألفا) غليادين الذي لم يلاحظ فيه أي تغاير وراثي. أما بالنسبة لمواقع الغلوتينين فكان موقع *GLU-B1* أعلى تغايرا من *GLU-D1* و *GLU-A1* وتميز الأخير بوجود الأليل null في جميع الأقماح القاسية المدروسة باستثناء طراز واحد ينتمي للصنف البلدي ناب الجمل حمل تحت الحزمة الأليلية *2. تميزت الأصناف المحسنة القاسية والطرية بقيمة منخفضة لدليل التغايرية العام HetI مقارنة مع الأصناف البلدية مما يؤكد ضرورة استخدام كلتا طريقتي الرحلان للحصول على فكرة شاملة عن تغايرات بروتينات التخزين ضمن الأصناف.

الكلمات المفتاحية: قمح، عدم تجانس وراثي، A-PAGE، SDS-PAGE .

---

* 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(ماجستير)- جامعة تشرين-كلية الزراعة- اللاذقية- سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (30) العدد (3) 2008
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (30) No. (3) 2008

Determining the Capability of A-PAGE and SDS-PAGE Electrophoresis Techniques to detect Heterogeneity within some Durum and Bread Wheat

Dr Mohammad Mouala*[*]
Dr Nizar MirAli [**]
Dr. Abdul Rahman Kalhout[***]
Suha Ashtar[****]

(Received 3 / 4 / 2008. Accepted 16/ 6/2008)

□ ABSTRACT □

Genetic variations within three old and improved wheat varieties were studied. Methods of A-PAGE and SDS-PAGE were used to analyze 48 seeds per variety. Results revealed the presence of heterogeneity in all loci of gliadins and glutenins in all varieties except for those of glutenins in the two bread wheat varieties: Bohouth6 and Souaid. Heterogeneity was higher in gliadin than in glutenin. Within the gliadins group,ω- and γ- were the most heterogeneous while α- showed no heterogeneity. As for glutenins loci, *Glu-B1* was more heterogeneous than *Glu-D1* and *Glu-A1*.The latter locus contained the null allele in all studied durum varieties except for one seed in the old variety, Nab Al-jamal, which carried the allelic subunit 2*. It is concluded that both techniques have to be utilized to obtain a comprehensive view of storage proteins heterogeneity within varieties.

Keywords: wheat, heterogeneity, A-PAGE, SDS-PAGE.

[*]**Porfessor, Department of Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria.**
[**]**Head of Departement of Biotechnology, Commission of Atomic Energy.**
[***]**Researcher, General Commisssion for Scientific Agricultural Research.**
[****]**Postgraduate Student, Department of Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria.**

مقدمة:

تعتبر بروتينات التخزين في القمح من المؤشرات البيوكيميائية الهامة في الكشف عن التباينات الوراثية وقد استخدمت لتقييم الأصول الوراثية المختلفة وتحديد هوية أصناف رباعية وسداسية من القمح (Mir Ali 2002 a,b; Shuaib *et al.*, 2007; Redaelli *et al.*, 1997; Payne *et al.*, 1984) لقد دُرست بروتينات الحبوب منذ زمن طويل يعود لـ250 عاماً حيث تم عزل البروتين أول مرة من حبوب القمح من قبل Beccari (1754) تلاه Osborne (1907) والذي يعد بحق أبو كيمياء بروتينات النبات ليضع تقسيمه الشهير للبروتينات والذي يعتمد على قابلية ذوبانها ضمن مجموعة مختلفة من المذيبات. فالألبومينات ذوابة بالماء والغلوبيولينات ذوابة بمحاليل الأملاح.

تشكل بروتينات التخزين في القمح (غليادين، غلوتينين) 90% من بروتينات البذور وتعرف بأنها أي بروتين يتراكم في الحبة ويتحلل مائياً ليحرر مكوناته من الأحماض الأمينية التي تستخدم كمصدر للآزوت من قبل البادرات أثناء الإنبات والمراحل الأولى من النمو (Spencer, 1984). وانتشراستخدامها على نطاق واسع كونها طريقة غير مكلفة وبسيطة وذات قدرة على الكشف عن التباينات الوراثية بين الأصناف الوراثية المختلفة (Metakovsky & Branland,1998). كما استخدمت بشكل فعال في تحديد درجة الخلط ومعرفة أسبابه سواء أكان ميكانيكيا أم وراثيا (MirAli, 2000).

حُظي كل من بروتيني التخزين في القمح (الغليادين والغلوتينين) بجانب كبير من الدراسات البيوكيميائية والوراثية، حيث أن الغليادين مسؤول عن صفة اللزوجة في عجينة الخبز بينما الغلوتينين مسؤول عن صفة المطاطية (Payne *et al.*, 1984; Mir Ali, 2000). الغليادين هو عبارة عن خليط مزدوج من الببتيدات وحيدة السلسلة وذات وزن جزيئي مرتفع يتراوح من 30000 إلى 75000 دالتون بينما الغلوتينين يبلغ وزنه الجزيئي 40 مليون دالتون ويعتبر Bietz and Wall.,(1972) أول من سجل انفصال الغلوتينين إلى نوعين من تحت الوحدات. الأول هو تحت الوحدات ذات الوزن الجزيئي المرتفع High molecular weight sub-units (HMW-GS)، والثاني تحت الوحدات ذات الوزن الجزيئي المنخفضLow molecular weight sub-units (LMW-GS) وذلك بعد معاملته بعامل مختزل (reducing agent) مثل 2-مركبتوايثانول. وتتشكل بروتينات التخزين في القمح بشكل عام من 50%غليادين و10% HMW-GS و40% LMW-GS.

أما من الناحية الوراثية فإن المورثات المسؤولة عن كليهما موثقة بشكل جيد حيث يوجد ستة مواقع غليادين رئيسة تقع على الذراع القصير 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 & Branland, (1998) و Pogna *et al.* (1993) .

من ناحية أخرى تقع HMW-GS على الذراع الطويل من المجموعة الصبغية الأولى 1A و 1B و1D (موقع *Glu-1*) بينما تقع LMW على الذراع القصير من ذات المجموعة (موقع *Glu-3*) الذي يعتقد أنه مرتبط (linked) مع موقع *Gli-1* (Pogna *et al.*, 1990).

من الشائع أحيانا وجود أصناف تعطي عند تحليلها الجزيئي أكثر من نموذج رحلان (Pattern) وهذا عادة مايحدث عندما يكون هذا الصنف غير متماثل اللواقح اي أن بعض الحبوب ضمن المجموعة تحمل ألليلات بديلة (alternative) في بعض مواقع الجينات (loci). هذه الظاهرة ممكن أن تلاحظ حتى ضمن الأصناف المحسنة والتي من المفترض أن تكون على قدر كبير من التشابه الوراثي كما أشار Porceddu *et al.*,(1998) حيث أعطى الصنف

الإيطالي Lira طرازين وراثيين الأول يحمل الحزمة 42 والتي هي مؤشر للعجينة السيئة والثاني يحمل الحزمة 45 والتي هي مؤشر للعجينة ذات المواصفات الجيدة.
استخدمت تقنية A-PAGE المطورة من قبل Bushuk & Zillman (1978) والتي تعتمد على فصل الغليادين ضمن أكريلاميد تحت وسط حامضي (PH=3.1) من قبل كثير من الباحثين بهدف تحديد هوية كثير من أصناف القمح،(2005) Ram *et al.*, MirAli (2002, a,b) وساهم استخدام تقنية SDS-PAGE المطورة من قبل Payne *et al.*, (1981) بالحصول على معلومات إضافية ذات وثوقية عالية فيما يتعلق بتعريف أصناف القمح المختلفة (MirAli et al., 1999, a,b)

أهمية البحث وأهدافه:

إن الهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن نقاوة بعض أصناف القمح الطري والقاسي المحسنة والبلدية في سورية وتحديد مصدر التباينات ضمن الصنف فيما إذا كانت ذات منشأ وراثي أو هي نتيجة لخلط ميكانيكي.

مواد البحث وطرائقه:

المادة النباتية:

دُرست ثلاثة أصناف من القمح الطري (الصنف المحسن بحوث6 وصنفان محليان بلديان: قندهاري أحمر وسويد) و ثلاثة أصناف من القمح القاسي (الصنف المحسن شام5 وصنفان محليان بلديان: حوراني 27 وناب الجمل) وتم تحليل 48 حبة من كل صنف بهدف دراسة التباينات ضمن الأصناف.

طرائق البحث:

استخلاص الغليادين بطريقة A-PAGE:

تم استخلاص الغليادين وفق طريقة Bushuk and Zillman (1978) مع بعض التعديلات الطفيفة. حيث طحنت كل حبة من الحبات المدروسة على حدة بواسطة جفنات الطحن ثم نقلت إلى أنابيب أبندورف 2 مل وأضيف لكل أنبوب 3.3 من وزن الحبة (حجم/وزن) كحول تركيز 70%. عُرض كل من هذه الأنابيب للرج على جهاز الرجاج (Vortex) بمعدل مرة كل 15 دقيقة ولمدة ساعتين ونصف، ثم ثفلت لمدة 15 دقيقة على سرعة 15ألف دورة في الدقيقة بمثفلة أبندورف. بعد انتهاء عملية التثفيل احتفظ بالراسب ونقلت الرشاحة إلى أنابيب جديدة خاصة بكل عينة وأضيف لكل عينة 85 µl من الغليسيرين تركيز 60% ليصبح المزيج جاهزاً للرحلان.
رُحل من كل عينة 15 µl 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. غمس في كل هلامة أمشاط ذات 15 بئر ووضع في كل منها 12 عينة إضافة لـ 3 عينات من الصنف الشاهد الكندي ماركيز حيث حقن في أول الهلامة وآخرها ومنتصفها، وجرى تحليل أربعة هلامات لكل صنف.

بعد الإنتهاء من عملية الرحلان الكهربائي غُمست الهلامات ضمن محلول الصبغة الخاص بها (محلول أزرق الكوماسي مع محلول ثلاثي كلور حمض الخل) ثم تركت لتتلون لمدة 17 ساعة، غُمست الهلامات المتلونة في الماء انقي لمدة 4 ساعات لتصبح بعد ذلك جاهزة للقراءة حيث تم تصويرها بالماسحة الألكترونية (Scanner).

تعطي الأصناف عند ترحيلها عدداً من الحزم أكثرها وضوحا وتميزا هي الحزمة التي تقع بمنتصف المسافة والتي تبلغ حركيتها النسبية (Relative mobility) والمعرفة بـ RM 50 بحسب Bushuk & Zillman (1978)

استخلاص الجلوتينين بطريقة SDS-PAGE:

استخلص الغلوتينين بحسب طريقة Laemmli (1970) المعدلة من قبل Payne *et al.,* (1981)، حيث استخدمت ذات الأنابيب المحتوية على الراسب من الاستخلاص آنف الذكر. أضيف إلى كل أنبوب محلول استخلاص يحتوي على SDS 2% وزن/حجم، 2-مركبتوايتانول (عامل مختزل) 5% وزن/حجم، بيرونين 0.001% وزن/حجم، غليسيرول 10% حجم/حجم، 0.063M Tris-HCl (pH 6.8). تركت العينات 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% حيث حمل من كل عينة 15 µl ضمن كل بئر وذلك ضمن جهاز الرحلان الآنف الذكر مع مراعاة تشغيل الجهاز على تيار 25 ميللي أمبير لمدة 14-16 ساعة. **تمت عملية تلوين الهلامات بالطريقة المذكورة نفسها عند تلوين الهلاملات الناتجة عن التقانة السابقة.** حددت الصيغ الألليلية لمواقع HMW-GS حسب توصيف Payne & Lawrence (1983).

حُسبت التغايرات لكل مجموعة غليادين و لكل موقع من مواقع الغلوتينين كما يلي: لكل حزمة / تحت حزمة، جمع عدد الحبات الشاذة من أصل 48 وسجلت نسبها المئوية ثم أخذ متوسطات التغايرات لكل مجموعة غليادين وموقع غلوتينين.

نتائج التحليل بتقنية A-PAGE:

تم فصل الغليادين إلى أربعة مجموعات منفصلة اعتماداً على الحركية النسبية (RM) للحزم المنفصلة كما يلي:

1- ω أوميغا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM أقل من 39

2- γ غاما غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين 40-56

3- β بيتا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين 57-68

4- α ألفا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين 69-80

تراوح عدد الحزم الكلية من 14 حزمة كما في الصنف القاسي شام 5 إلى 23 حزمة كما في الصنف الطري قندهاري أحمر(جدول 1). ومن المعروف أن أول حزمة غليادين مميزة للأصناف القاسية تظهر عند RM أكبر من 20 في حين تظهر أول حزمة غليادين مميزة للأصناف الطرية عند 12-15 RM.

الجدول(1) يظهر عدد الحزم الموجودة ضمن كل منطقة من مناطق فصل الجليادين والخاصة بكل صنف

	مجموعات الغليادين				
الصنف	α	β	γ	ω	عدد الحزم الكامل
الأصناف القاسية					
حوراني 27	4	3	4	6	17
شام 5	3	4	3	4	14
ناب الجمل	3	4	7	6	20
متوسط عدد الحزم	3.33	3.66	4.66	5.33	17
الأصناف الطرية					
قندهاري أحمر	4	3	5	10	22
بحوث 6	4	6	6	3	19
سويد	3	5	5	4	17
متوسط عدد الحزم	3.66	4.66	5.33	5.66	19.33

يتبين من الجدول (1) أن المنطقة ω غليادين احتوت بالمتوسط العدد الأكبر من الحزم في جميع الأصناف القاسية والطرية تلتها المنطقة γ ثم β و أخيرا α غليادين. في الأصناف القاسية، سجل الصنف ناب الجمل العدد الأكبر من الحزم في كل مناطق الرحلان بينما كان الصنف المحسن شام 5 الأقل بعدد الحزم. وفي الأصناف الطرية كان الصنف البلدي قندهاري أحمر يحمل العدد الأكبر من الحزم بينما تميز الصنف البلدي سويد بأقل عدد من الحزم.
أما الجدول (2) فيظهر النسب المئوية لتوزع الحزم المتباينة (Polymorphism) الناتجة ضمن مجموعات الغليادين في الأصناف المدروسة.

الجدول رقم (2) يظهر النسبة المئوية لتوزع الحزم المتباينة (Polymorphism)ضمن مجموعات الغليادين.

	مجموعات الغليادين			
الصنف	α	β	γ	ω
الأصناف القاسية				
حوراني 27	0	0	%75	%83
شام 5	0	0	%33	0
ناب الجمل	0	0	%57	%83
الأصناف الطرية				
قندهاري أحمر	0	%33	0	%80
بحوث 6	0	0	%33	%33
سويد	0	0	%60	%50

بشكل عام تميزت منطقة α غليادين بعدم وجود أي تباينات فيها وذلك في جميع الأصناف المدروسة وكذلك الأمر بالنسبة لمنطقة β غليادين باستثناء الصنف قندهاري أحمر الذي احتوى نسبة قليلة من التباينات في هذه المنطقة. في حين تميزت المنطقتان γ و ω غليادين بوجود تباينات وراثية في كل الأصناف باستثناء الصنف قندهاري أحمر الطري والصنف شام 5 القاسي لذات المنطقتين على التوالي. وضمن منطقة ω غليادين، وجدت أعلى نسبة من الحزم المتباينة ضمن الصنفين القاسيين المحليين حوراني 27 وناب الجمل وبين الأصناف الطرية كان الصنف المحلي قندهاري أحمر الأعلى بنسبة الحزم المتباينة تلاه الصنف المحلي سويد، على حين كانت أقل نسبة موجودة ضمن الصنفين المحسنين شام 5 و بحوث 6.

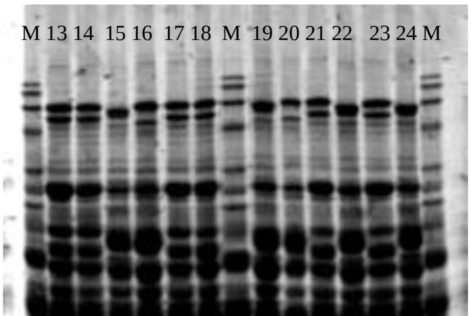
نتائج التحليل بتقنية SDS-PAGE:

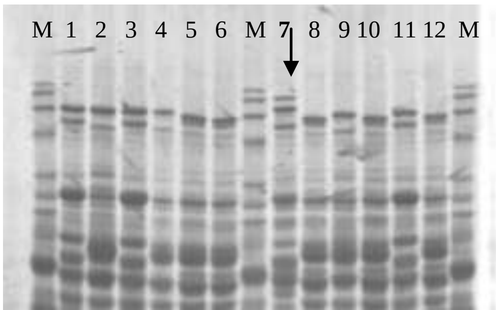
لقد نتج عن فصل الغلوتينين نوعين من الحزم أو مايسمى بتحت الوحدات للغلوتينين Glutenin subunit. الأول ذات وزن جزيئي مرتفع وتدعى high molecular weight والثاني ذات وزن جزيئي منخفض وتسمى low molecular weight. ويوضح الجدول (3) التباينات الوراثية التي كشفت في مواقع *Glu-1* بالنسبة للأصناف المدروسة.

الجدول(3) التباينات الوراثية لتحت وحدات الغلوتينين مرتفعة الوزن الجزيئي في الأصناف المدروسة

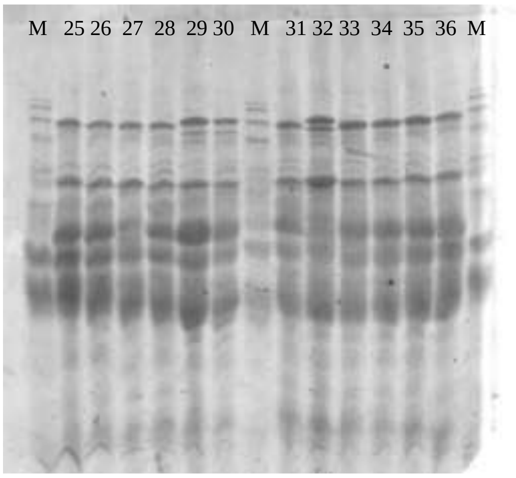
	عدد الطرز المتغايرة	*Glu-A*	*Glu-B*	*Glu-D*
الأصناف القاسية				
شام 5	واحد	null	7+8، 17+18	
حوراني 27	واحد	null	6+8 ، 17+18	
ناب الجمل	اثنان	null, 2*	7+8، 17+18	
الأصناف الطرية				
بحوث 6	صفر		17+18	2+12
قندهاري أحمر	ثلاثة	2* ، 1	7+8 ، 17+18	5+10 ،2+12
سويد	صفر		7+8	2+12

لقد سجلت في جميع الأصناف القاسية اختلافات في موقع *Glu-B* بينما تميز الصنف المحلي ناب الجمل بوجود اختلاف وحيد في موقع *Glu-A* من خلال وجود طراز وحيد يحمل الألليل *2،(شكل رقم1). وفي الأصناف الطرية تميز الصنف المحلي قندهاري أحمر بوجود اختلافات في مواقع *Glu-1* الوراثية الثلاث *Glu-A1*، *Glu-B1*، *Glu-D1* بينما لم تسجل أية اختلافات في كل من الصنف المحلي سويد والصنف المحسن بحوث6.



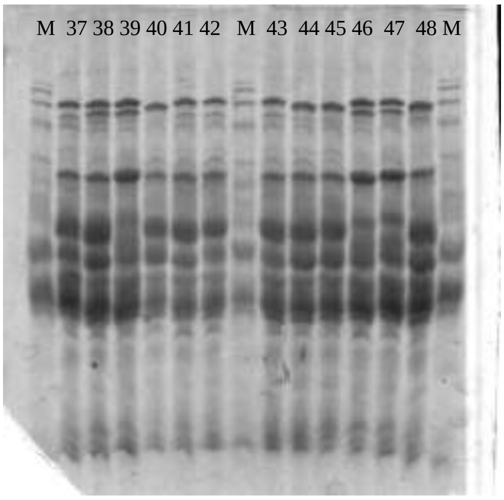


12-1



36- 25

24-13



48-37

الشكل (1) يظهر نتائج رحلان 48 طراز من الصنف القاسي ناب الجمل باستخدام تقنية SDS-PAGE والسهم يظهر الطراز ذا الاختلاف الوحيد في موقع *Glu-A*. هذا الطراز يحمل الألليل 2*

دليل التغايرية (Het I) Heterogeneity Index:

لخصت بيانات تغايرات جميع المواقع المدروسة في الجدول (4) لمجموعتي الأصناف القاسية والطرية. أعطيت قيمة 0 عند عدم وجود أي تغاير في الموقع و1 عند وجود أي طراز وراثي مختلف عن الـ 48 طرازاً الداخلة بالتحاليل لكل الأصناف المدروسة وذلك بحسب MirAli (2000) الذي استنبط مؤشرا للتغاير أطلق عليه دليل التغايرية Heterogeneity Index (HetI). ويحسب هذا الدليل بأخذ وسطي قيم مواقع الغليادين والغلوتينين مجتمعة في كل صنف.

كانت قيم HetI في مجموعة الأصناف القاسية بالمتوسط أعلى بقليل من مجموعة الأصناف الطرية (0.5 و 0.43 على التوالي) وكانت هذه القيم بشكل عام أعلى في الأصناف المحلية القديمة منها في الأصناف المحسنة. كما كانت التغايرات ضمن مجموعة الغليادين ذات مدى واسع تراوح بين 0 (α غليادين) و0.83 (γ و ω غليادين) وأكبر من تلك التي سجلت في مجموعة الغلوتينين والتي تراوح مداها بين 0.33 (موقعي *Glu-A1* و *Glu-D1*) و0.67 (موقع *Glu-B1*) (الجدول 4). كما نجد من ذات الجدول أن أعلى قيمة لدليل التغايرية كانت ضمن الصنف الطري المحلي قندهاري أحمر بينما سُجلت أقل قيمة ضمن الصنف الطري المحسن بحوث 6 والصنف الطري المحلي سويد اللذان تميزا بتماثلية وراثية تامة في مواقع الغلوتينين الثلاثة *Glu-A1*، *Glu-B1*، *Glu-D1*. أما في الأقماح القاسية فقد تميز الصنف المحسن شام 5 بأقل دليل تغايرية بوجود تغاير في موقع واحد من كل من الغلوتينين والغليادين بينما تميز الصنف ناب الجمل بأعلى قيمة لدليل التغايرية باحتوائه على تغاير في موقعي الغلوتينين وفي كل من γ و ω غليادين.

الجدول (4) بيانات تغايرات جميع المواقع المدروسة لكل الأصناف المدروسة وذلك بحسب MirAli (2000) .

الصنف	*HMW-GS*			*Gliadin groups*				
الأصناف القاسية	*Glu-A1*	*Glu-B1*	*Glu-D1*	α	β	γ	ω	*Het I*
حوراني 27	0	1		0	0	1	1	0.5
شام 5	0	1		0	0	1	0	0.33
ناب الجمل	0	1		0	0	1	1	0.5
متوسط عدد الحزم	0	1		0	0	1	0.66	0.44
الأصناف الطرية								
قندهاري أحمر	1	1	1	0	1	0	1	0.71
بحوث 6	0	0	0	0	0	1	1	0.33
سويد	0	0	0	0	0	1	1	0.33
متوسط عدد الحزم	0.33	0.33	0.33	0	0.33	0.66	1	0.425

النتائج و المناقشة:

أظهرت هذه الدراسة كفاءة طريقتي الرحلان الكهربائي A-PAGE و SDS-PAGE المطبقتين على بروتينات التخزين في حبوب القمح في كشف الاختلافات الوراثية ضمن الأصناف المحسنة والبلدية لكل من الأقماح القاسية و الأقماح الطرية.

من المعروف أنه يمكن التمييز بشكل عام بين الأصناف القاسية والطرية بسهولة بطرق الرحلان الكهربائي ويعزى ذلك في الغالب إلى غياب المجين D في الأصناف القاسية وبالتالي فان الحزم المسؤولة عنه في طريقة A-PAGE ترحل قليلا وغالبا ما تعزى الحزم ذات RM<20 إليه كما أن نمط التوزيع مختلف

Sapirstein and Bushuk (1985). وهذا ما لوحظ لدينا في هذه الدراسة، إلا أن MirAli (1987) أشار في دراسة على الأقماح الرباعية البرية *T.dicoccoides* التي تعتبر أصل الأقماح القاسية الموجودة حاليا وتحمل نفس

المجينين A و B إلى وجود عدد كبير من الحزم ذات RM<20 في نفس المنطقة التي تحوي ω غليادين ويبدو أن هذه الحزم اختفت أثناء عملية الاستئناس domestication.

أما بالنسبة لطريقة SDS-PAGE فتكشف هي الأخرى بين الأقماح القاسية والطرية بسهولة حيث أن تحت حزم الغلوتينين عالية الوزن الجزيئي الموجودة على المجين D موصوفة جيدا Payne & Lawrence (1983). كما أشار MirAli *et al* (1999a) ومن خلال مسح للطرز الوراثية من الأقماح القاسية المزروعة في سورية، إلى أن كل هذه الطرز احتوت الألليل null من المجين A. لقد أظهرت نتائج دراستنا أن الصنف ناب الجمل شكل استثناء من هذه القاعدة حيث حمل الألليل 2* من موقع *Glu-A1* (المجين A). أما من حيث الفروق بتكرارية التغاير في موقع *Glu-B1* بين الأصناف القاسية والأصناف الطرية فقد امتازت جميع الأصناف القاسية بوجود تغاير في هذا الموقع بينما وجد صنف واحد طري (قندهاري أحمر) يحمل هذا التغاير.

لقد أظهرت هذه الدراسة وجود نزعة عامة ميزت الاختلافات في كل مجموعات الغليادين حيث كانت نسب هذه الاختلافات بالمتوسط من الأعلى وإلى الأدنى ω تلاها γ ثم β وأخيرا α غليادين (جدول 2). توافقت هذه النتائج مع MirAli (2001) بأن ω غليادين الأعلى و α غليادين الأقل اختلافا في مجموعتي الأصناف القاسية و الطرية، لكن الدراسة الحالية اختلفت عن الدراسة المشار إليها في وجود النزعة العامة التي لم تلاحظ في الدراسة الأخيرة التي وجدت أن ω غليادين كانت بالمتوسط أكثر اختلافا في الأصناف القاسية تلاها γ ثم β بينما كانت β الأكثر اختلافا في الأصناف الطرية تلتها γ ثم ω (MirAli 2001) .

أظهرت النتائج أن وسطي التغايرات في الغليادين كان أعلى منه في الغلوتينين، ويمكن تفسير ذلك بكون الغليادينات معقدة أكثر من الناحية الوراثية سواء من حيث عدد المورثات المسؤولة عنها أو من حيث التعدد الألليلي الواسع (Metakovsky and Branlard (1998 مما ينجم عن ترحيلها بهذه الطريقة عدداً أكبر بكثير من الحزم مقارنة مع طريقة SDS-PAGE. وتجدر الإشارة إلى أن الأخيرة قد تكون مكملا جيدا للأولى كون مواقع الغلوتينينات *Glu-1* مستقلة تماما بتوريثها عن مواقع الغليادينات *Gli-1* حيث تقع الأولى على الذراع الطويل بينما تقع الثانية على الذراع القصير من نفس المجموعة الصبغية الأولى وكذلك عن مواقع *Gli-2* التي تقع على المجموعة الصبغية السادسة (Payne *et al*., 1984).

إن تطبيق رحلان البروتينات لكلا الغليادين والغلوتينين لهدفنا يعطي مزايا أكبر مقارنة مع المعلمات الجزيئية للدنا DNA (Shuaib *et al*., 2007) ، كونها أقل تكلفة من الأخيرة وأسهل لتقييم الاختلافات ضمن أصناف القمح. علاوة على أنه يمكن اختيار الطراز المفضل بعينه من خلال إجراء تحاليل الرحلان الكهربائي على نصف حبة القمح غير المحتوية على الجنين وزراعة النصف الآخر للمتابعة بعمليات التحسين الوراثي الهامة جدا. وفي هذا السياق وتأكيدا لجهود التربية وعمليات التحسين الوراثي المستندة إلى الأساليب العلمية التي يقوم بها مربو النبات في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية بالتعاون مع الجهات الوطنية الأخرى فقد أشارت نتائج هذه الدراسة إلى أن الصنفين المحسنين احتويا على نسبة تغايرات وراثية HetI أقل من الأصناف البلدية القديمة. إن متابعة عمليات التحسين الوراثي باستخدام هذه الطرائق ممكنة جدا لناحية اختيار الحزم ذات العلاقة بالنوعية العالية للخبيز أو تلك المرتبطة بصفات نوعية أو شكلية أخرى ولعمليات تنقية الأصناف من جهة أخرى.

وجد MirAli (2000) في دراسته على أصناف أخرى من القمح نتائج مشابهة لنتائجنا من حيث وجود عدد قليل من الطرز المتغايرة تمثلت بوجود حبتين غريبتين أو ثلاثة من أصل الـ52 واعتبرها طرزا حيوية من أصل الصنف

Biotypes كونها اختلفت في عدد قليل من الحزم أو أنها انعزالات لم تكشف بالطرق المتبعة أثناء التنقية قبيل اعتماد الصنف. وعبر عن ذلك بالخلط الوراثي. لكن دراستنا الحالية لم تكشف عن أي صنف كان به خلطا ميكانيكيا على عكس دراسة (MirAli (2000 والتي كشفت أن الصنف الطري الحديث شام 6 حمل درجة كبيرة من الخلط الوراثي في جميع المواقع تقريبا حيث وجد فيه 37 حبة مختلفة، واقترحت أن الصنف المذكور قد اعتمد على عجل بمرحلة وجدت فيه انعزالات كبيرة أو أن العينة المدروسة حصل فيها خلط ميكانيكي.

الاستنتاجات والتوصيات:

يستنتج من الدراسة بأنه لا بد من استخدام كل من طريقتي A-PAGE و SDS-PAGE لإعطاء صورة شاملة عن التغايرات ضمن الأصناف ومعرفة كنه هذه التغايرات أهي وراثية أم نتيجة خلط ميكانيكي، حيث وجدت بعض الأصناف المتماثلة وراثيا للمواقع التي تظهرها إحدى الطريقتين ولكنها متغايرة وراثيا في المواقع التي تكشفها الطريقة الأخرى.

المراجع:

1. BECCARI. De frumento. *De Bononiensi scientiarum et atrium instituto ateque academia commentaii*, 1745, II. Part I., 122-127.
2. 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.
3. 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.
4. LAEMMLI, U.K. *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.* Nature. 227, 1970,680-685.
5. 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.
6. MIRALI, N. *Protein improvement in Triticum turgidum var. durum (Desf.) by induced mutations and hybridization with Triticum turgidum var. dicoccoides (Korn.*). Ph.D Thesis. 1987The University of Newcastle, UK.
7. MIRALI, N. *Gliadins composition and cluster analyses of Syrian grown durum wheat.* Plant Breeding & Seed Science. 46, 2002a, 51-62.
8. MIRALI, N. *Cluster analysis of Syrian grown bread wheat genotypes based on gliadin composition.* J.Genet.& Breed. 56, 2002b,177-183.
9. 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.
10. MIRALI, N.*; M.I.E. ARABI, B.Al-SAFADI. High molecular weight glutenin subunits composition of Syrian grown bread wheat and its relationships with gluten strength.* J. Genetics & Breeding (53) 1999a 237-245.

11. MIRALI, N.; M.I.E. *ARABI and B.Al-SAFADI. Frequencies of high and low molecular weight glutenin subunits in durum wheat grown in Syria.* Cereal Research Communications (27) 1999b:301-305.
12. OSBORNE, T.B. *The proteins of the wheat kernel.* Carnegie Inst., Wash. Publ. No. 84, 1907.
13. PAYNE, P. I & LAWRENCE, G.J. *Catalogue of alleles for the complex loci, Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat.* Cereal Research Communication 11, 1983,29-35.
14. PAYNE, P. I; 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. PORCEDDU, E., TUECHETTA, T., MASCI, S., D'OVIDIO, R., LAFIANDRA, D., KASARDA, D.D., IMPIGLIA, A., NACHIT, M.M., *Variation in endosperm protein composition and technilogical quality properties in durum wheat*. Euphytica. 11, 1998, 197-205.
19. RAM, S., JAIN, N., DAWAR, V., SINGH, R,P., SHORAN, J. *Analysis of Acid-PAGE Gliadin pattern of Indian Wheats (Triticum aestivum L.) representing different environments and periods.* Crop Science , 2005, 45: 1256-1263.
20. 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.
21. SAPIRSTEIN, H.D. & BUSHUK, W. *Computer-Aided Analysis of Gliadin Electrophoregrams. II. Wheat Cultivar Identification and Class Comparisons.* Cereal Chemistry 62, 1985:377-292.
22. 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.
23. SPENCER, D. *The Physiological Role of Storage Proteins in Seeds.* Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, 304, 1984, 275-285.