مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (32) العدد (2) 2010
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (32) No. (2) 2010

التباين الوراثي في القمح القاسي باستخدام المؤشرات البيوكيميائية

الدكتور محمد يحيى معلا*
الدكتور عبد الرحمن كلحوت**
لينا النداف***

(تاريخ الإيداع 28 / 7 / 2009. قبل للنشر في 22 / 2 / 2010)

□ ملخّص □

يشكل الغليادين والغلوتينين المكونين الأساسيين لبروتينات التخزين في القمح. وتعد هذه البروتينات من المؤشرات البيوكيميائية الهامة في الكشف عن التباينات الوراثية. هدفت هذه الدراسة إلى استخدام هذه البروتينات للكشف عن الاختلافات الوراثية بين (14) صنفاً وطرازاً محلياً من الأقماح القاسية باستخدام تقانتي A-Page وSDS-Page. بلغ عدد الحزم الناتجة عن التقانة الأولى 13 حزمة متباينة تم إحصاؤها في المنطقة أوميغا وألفا غليادين، أما بالنسبة للحزم الناتجة عن تطبيق التقنية الثانية فكان عددها 9 حزم وتدعى تحت وحدات الغلوتينين ذات وزن جزيئي مرتفع HMW-GS. جُمعت البيانات الناتجة عن كلا التقانتين وحُسب على أساسها معامل التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة وفق معادلة Dice، ورسمت شجرة القرابة الوراثية التي توضح التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة بطريقة المتوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA). أظهرت النتائج أن متوسط نسبة التشابه الوراثي بين الأصناف المدروسة بلغت 49%، لوحظ بأن الصنفين الوراثيين بحوث9 وبحوث 11 متطابقان وراثيا (نسبة التشابه 100%) في حين وجدت أدنى قيمة للتشابه الوراثي بين جودا 3 وأقباش(25%)، و تميزت الطرز جورجيت و كشك و كحلا هدبا بالحزمة 45 و التي تعطي عجيناً ذا مواصفات تكنولوجية عالية، بالإضافة إلى تحت الحزم(18+17) التي تؤثر ايجابياً على العجين.

الكلمات المفتاحية: غلوتينين، غليادين، قمح قاسٍ، SDS-Page، A-Page

* أستاذ – قسم المحاصيل الحقلية– كلية الزراعة – جامعة تشرين– اللاذقية – سورية .
** باحث–قسم التقانات الحيوية–الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية– مركز بحوث حلب- سورية.
***طالبة دراسات عليا (ماجستير) – قسم المحاصيل –كلية الزراعة – جامعة تشرين –اللاذقية – سورية .

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (32) العدد (2) 2010
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (32) No. (2) 2010

Genetic Variability in Durum Wheat Using Biochemical Markers

Dr. Mohammad Yahia Moualla*
Dr. Abdul Rahman Kalhout**
Lina Al-naddaf***

(Received 28 / 7 / 2009. Accepted 22 / 2 /2010)

□ ABSTRACT □

Seed storage proteins (Glutenin & Gliadin) are considered as effective markers to detect genetic variability in cereals and especially within and between wheat varieties. In this study 14 genotypes were characterized using biochemical markers (gliadins and glutenin). The number of bands detected were 13 and 9 polymorphic bands for gliadins, and glutenin respectvely . Data were combined together (22 polymorphic bands) to calculate the genetic similarities between studied individuals using Dice coefficient followed by setting up the cluster analysis using UPGMA method. The value of average genetic similarity was %49 between varieties. Bohouth 9 and Bohouth 11 were identical(100% similarity), while joda3 and akbach had the low genetic similarity with % 25 .Jorjet, kechek and kahla hadba recognised by gamma 45 and subunits (17+18) that had positive effect on the dough.

Key words: Glutenin, Gliadin, Wheat, A-PAGE & SDS-PAGE

*Prof. Field Crops Department, Faculty Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria
**Researcher, Biotechnology Department, GCSAR, Sci. Agri. Res. Center, Aleppo , Syria.
*** postgraduate student, Field Crops Department, Faculty Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria

مقدمة:

يعتبر نبات القمح *Triticum* spp. من أهم محاصيل الحبوب النجيلية المزروعة عالمياً إذ يغطي 23.4% من الاحتياج العالمي من الغذاء(Harlan, 1995)، كما يشكل مصدراً غذائياً رئيساً لحوالي 40% من سكان العالم ويغطي20% من السعرات الحرارية والبروتين في الغذاء البشري (Gupta *et al*., 2008). يزرع القمح في 120 دولة في العالم، ويحتل أكبر مساحة مزروعة (17% من المساحة المزروعة عالمياً) مقارنة مع محاصيل الحبوب الأخرى، إذ وصلت في عام 2007 إلى 611,1 مليون طن(FAO,2007)، تنتج منطقة حوض البحر المتوسط أكثر من 85% من إنتاج العالم من القمح القاسي، إذ يصل معدل استهلاك الفرد في المنطقة من هذه المنتجات إلى 150-200 كغ/سنة، وهي أعلى المعدلات في العالم (Nachit, 1998).

وفي سورية يحتل القمح موقعاً استراتيجياً بين بقية المحاصيل المزروعة، حيث يسهم بدور فعال في دعم الاقتصاد الوطني، لما له من أهمية في تأمين الاكتفاء الذاتي من احتياجات الغذاء وتوفير القطع الأجنبي من عائدات التصدير. وقد حققت زراعته في السنوات الأخيرة من القرن الماضي قفزات نوعية في كمية الإنتاج، وبلغت المساحة المزروعة به في عام 2007 حوالي 1.7 مليون هكتار أنتجت 4.1 مليون طن، ومتوسط إنتاجية قدره 2423كغ/هـ (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية،2007).

نظراً لهذه الأهمية فقد تركز الاهتمام حول زيادة إنتاجية هذا المحصول وتحسين نوعيته لذلك اتجه مربو النبات إلى استنباط أصناف ذات إنتاجية عالية ونوعية جيدة، إلا أن فعاليات تربية النبات الحديثة، والانتخاب الموجه باستمرار باتجاه حاجات الإنسان الاقتصادية، قد قللت من التنوع الوراثي لهذه النباتات، وجعلتها حساسة للإجهادات الحيوية و اللاحيوية.

لذلك كان لابد من البحث عن المصادر الوراثية التي تحمل عوامل التكيف مع الإجهادات المختلفة وتقييمها ومعرفة خصائصها الوراثية، لاسيما الأقماح المحلية الموجودة منذ مئات السنين، والتي تحتوي على التباينات الوراثية الهامة والضرورية لبرامج التربية. يمكن استخدام العديد من الطرق لتقدير التباين الوراثي، كالمعايير الشكلية (المورفولوجيا) والتي تتصف بتأثرها بالظروف البيئية،والمعايير الجزيئية التي لا تتأثر بالظروف البيئية،والمعايير البيوكيميائية المتميزة بعدم تأثر نوعها بالعوامل البيئية وتعتبر بروتينات التخزين Storage proteins مؤشراً جيداً يعكس التباينات الوراثية بين الأفراد والأنواع.

تتميز بروتينات التخزين بكونها بروتينات وظيفية تعطي العجين صفة المطاطية واللزوجة والتماسك، وتستخدم في تحديد نوعية الخبز، كما أنها مصدر مهم من مصادر الطاقة (Cooke and Law,1998) .

وحسب Osborne عام(1907) يمكن تقسيم البروتينات وفقا لخصائص الانحلال إلى:

بروتينات الألبومين والغلوبولين: وهي بروتينات ذوابة بالماء وبمحاليل الأملاح إضافة إلى كونها ذات وظيفة بنائية تدخل في تركيب الجدر الخلوية والسيتوبلازم والشبكة السيتوبلازمية، وتتميز بانخفاض وزنها الجزيئي (28000 دالتون) وغناها بالسيستيين واللايسين وتريبتوفان ومثيونين، ويتم تصنيعها خلال المرحلة الأولى لامتلاء الحبة .

برولامينات: ذوابة في الكحول وتعتبر بروتينات البرولامين من أوائل البروتينات المدروسة. ويعرف البرولامين بأسماء متعددة تختلف باختلاف النبات فهي gliadin في القمح وavenins في الشوفان و zeins في الذرة و secalins في الشيلم و hordein في الشعير.

الغلوتيلينات: تذوب في المحاليل الحمضية أو القلوية الخفيفة. و أول من وصف غلوتين القمح Beccari عام (1745) ويسمى غلوتين القمح بالغلوتينين(Pomeranz ,1988).

تسمى الغليادينات والغلوتينينات ببروتينات التخزين التي تصنع خلال المرحلة الأولى لامتلاء الحبة، ويتم التصنيف والتفريق بين هذين النوعين من بروتينات التخزين اعتماداً على البنية الكيميائية لهما، وهذا التصنيف يعتمد على المورثات المسؤولة عن تشكيل وتركيب البولي ببتيدات (Payne and Lawrence, 1983).

يتألف الغليادين من مزيج من البولي ببتيد وحيد السلسلة ويتراوح وزنه الجزيئي بين 30.000− 75,000 دالتون (MacRitchie, 1994)، ويتميز بمحتواه المرتفع من الأحماض الأمينية مثل الغلوتامين (25%) والبرولين (20%)، وانخفاض محتواه من الآرجنين واللايسين والأسباراتيك. ويقسم إلى أربع مجموعات بالاعتماد على درجة الرحلان والحركة النسبية لجزيئاته(Relative mobility(RM ضمن نظام الرحلان الكهربائي A-PAGE وهي حسب (Radić *et al*.,1998):

ω أوميغا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM حتى 39 .

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

β بيتا غليادين تحتوي الحزم ذات قيمة RM بين 57-68.4 .

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

وتتميز ω أوميغا غليادين بغياب السيستيين.

إن الغليادين مسؤول عن صفة اللزوجة في عجينة الخبز، وتتوضع المورثات المسؤولة عنه على الذراع القصير للصبغي الأول لكل من المجموعات الصبغية 1A و1B و1D (Gli-1) والصبغي السادس 6A و 6B و6D موقع(Gli-2) (Harsch *et al* ., 1997).

وتحتوي بروتينات التخزين في القمح بشكل عام على 50% غليادين و50% غلوتينين مكون من 10% غلوتينين ذي وزن جزيئي مرتفعHMW-GS و 40%LMW-GSغلوتينين ذي وزن جزيئي منخفض يختلفان عن بعضهما بتركيبهما من الأحماض الأمينية.يعتبر الغلوتينين مسؤولاً عن صفة المطاطية، و تقع المورثات المسؤولة عن بروتينات الغلوتينين ذات الوزن الجزيئي المرتفع HMW - GS على الذراع الطويل من المجموعة الصبغية الأولى 1A و 1B و1D موقع (*Glu-1*)(Payne et al., 1980)، بينما تقع المورثات المسؤولة عن بروتينات الغلوتينين ذات الوزن الجزيئي المنخفض LMW - GS على الذراع القصير من المجموعة الصبغية الأولى 1A و1B و1D (موقع *Glu-3*) الذي يعتقد أنه مرتبط (linked) مع موقع(*Gli-1*) (Pogna *et al*1990).

تعد هذه البروتينات من المؤشرات البيوكيميائية الهامة في الكشف عن التباينات الوراثية، وقد استخدمت من قبل العديد من الباحثين لتقييم المصادر الوراثية المختلفة، وتحديد هوية أصناف القمح الرباعية والسداسية (Redaelli *et al*., 1997; Mir Ali, 2002 a,b; Shuaib *et al*., 2007)

وانتشرت على نطاق واسع كونها بسيطة وغير مكلفة، وذات قدرة على الكشف عن الاختلافات الوراثية بين الأصناف والطرز المختلفة و في تحديد درجة الخلط و معرفة أسبابه، فيما إذا كان خلطا ميكانيكيا أم خلطا ناتجاً عن تهجين خلطي بين فردين مختلفين.

(Metakovsky and Branland,1998; Wrigley, 1976; Mir Ali, 2000)

واستخدمت تقنية (Electrophoresis Acidic Polyacrylamide Gel)A-PAGE المطورة من قبل (Bushuk and Zillman , 1978) والتي تعتمد على فصل الغليادين ضمن هلامة من الأكريلاميد بوسط حامضي

(PH=3.1) لتحديد طبيعة التباينات الوراثية لمجموعة من طرز القمح ثنائي الحبة وبهدف تحديد هوية كثير من أصناف القمح (معلا وحكيم، 1992 ;Ram *et al.*,2005; Mir Ali, 2002 a,b; Wrigley, 1992). وتعطي قراءات حزم الغليادين الناتجة عن A-PAGE تفسيرات دقيقة عن الاختلافات الموجودة بين الطرز بعيدا عن تأثير الظروف البيئية (Bushuk and Zillman, 1978).

أهمية البحث وأهدافه:

توصيف 14 طرازاً وراثياً من القمح القاسي (طرز محلية وأصناف حديثة وطرز مبشرة) من الناحية البيوكيميائية باستخدام بروتينات الغليادين والغلوتينين لتحديد درجة التباين الوراثي بين الطرز وعلاقات القرابة الوراثية بينها.

طرائق البحث ومواده:

استخدم في الدراسة مجموعة من أصناف وطرز القمح القاسية، وقد تم الحصول عليها من الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية- إدارة بحوث المحاصيل- دوما- دمشق، شملت

جودا 2، جودا 3، كحلا هدبا، شهبا، أقباش، كشك، جورجيت (طرز محلية)

دوما 29868، دوما 41004، أكساد 1229(أصناف مبشرة قيد الاختبار قبل اعتمادها)

شام 7، بحوث 9، بحوث11، دوما 1 (أصناف معتمدة مستنبطة من خلال برنامج التربية).

وأجريت التحاليل البيوكيميائية في مخبر التقانات الحيوية- مركز بحوث حلب. ودرس من خلالها التباين الوراثي والعلاقات الوراثية بين الأصناف بترحيل عينة واحدة من كل صنف، هذه العينة هي عبارة عن مجموعة من(5) حبوب مأخوذة من سنابل ممثلة للصنف الواحد، تم طحنها ووزن50 mg من الطحين الناتج لإجراء الرحلان الكهربائي لها، ثم قراءة الهلام الناتج عن عملية الترحيل لأربع مكررات.

استخلاص و تحليل الغليادين بطريقة A-PAGE:

استخلص الغليادين من الحبوب وفق طريقة (Bushuk and Zillman,1978) بوزن 50 ملغ من الحبوب المطحونة ثم إضافة 3.3 من وزنها ايثانول 70% أي ما يعادل **165** ميكروليتر وتمزج لمدة 2.30 ساعة على رجاجة أنابيب فردية(Vortex) بمعدل مرة كل ربع ساعة، ثم تثفل العينات على سرعة 15000 دورة/د لمدة 15 دقيقة. بعد انتهاء عملية التثفيل يتم سحب السائل العلوي من الأنابيب ويترك الراسب. ينقل السائل من كل عينة إلى أنابيب جديدة ويضاف لكل عينة 85 ميكروليتر من الغليسيرين تركيز 60% ليصبح المزيج جاهزاً للترحيل على هلامة الاكريلاميد.

تُحضر هلامة الأكريلاميد ثم تحقن العينات بمعدل 15 ميكروليتر من كل عينة ضمن الآبار المخصصة لها. يتم الرحلان في جهاز الرحلان الكهربائي العمودي من شركة (BioRad) بوجود تيار كهربائي 40ميلي آمبير لمدة 4 ساعات مع مراعاة وضع المأخذ الكهربائي بالشكل المعاكس من أجل تضاد الشحنة.

تتضمن الهلامة 11 عينة، إضافة لـ 4 عينات من الصنف الشاهد الكندي ماركيز حيث يحقن في أول الهلامة وآخرها ومنتصفها. يعطي هذا الصنف عند ترحيله عدداً من الحزم أكثرها وضوحا وتميزاً هي الحزمة التي تقع بمنتصف المسافة. بعد الانتهاء من عملية الرحلان الكهربائي توضع الهلامة في محلول صبغة أزرق الكوماسي [(يحضر بإذابة 1 غ من مادة أزرق الكوماسي في 100مل ايثانول مطلق حتى تمام الذوبان ثم يتم ترشيحها ووضعها في البراد لحين الاستخدام. يؤخذ 100 غ من ثلاثي حمض الخل(TCA) و يحل في 50-60 مل ماء مقطر ويكمل الحجم إلى

100مل، يضاف 15مل من محلول الصبغة المحضر مسبقا إلى 36 مل من محلول(TCA) ويكمل الحجم حتى 300مل)] لليوم التالي بدرجة الحرارة 25 درجة مئوية، ثم تنقل إلى الماء المقطر للتخلص من الصبغة الزائدة لتصبح الحزم جاهزة للقراءة.

استخلاص وتحليل الغلوتينين بطريقة SDS-PAGE:

يستخلص الغلوتينين وفق طريقة(Laemmli,1970)المعدلة من قبل(Payne *et al*,1981). بوزن 40 ملغ من الطحين ووضعها في أنابيب 2مل، ثم إضافة محلول الاستخلاص المكون SDS 2% وزن/حجم،5 % وزن/حجم من 2–مركبتوايتانول(2-Mercaptoethanol وصيغته الكيميائية $HOCH_2CH_2SH$)، بيرونين 0.001% وزن/حجم، جليسيرول 10% حجم/حجم، مادة (1MTris-HCl (pH 6.8.وتترك العينات لمدة (1.30) ساعة، مع الرج على رجاجة أنابيب فردية (Vortex) بمعدل مرة كل 15 دقيقة، ثم توضع في ماء مغلي لمدة (1.30) دقيقة ومن ثم يتم تثفيلها على سرعة 15000 دورة/د لمدة 15 دقيقة.

تحضر الهلامة الرئيسية والثانوية، ثم تحقن العينات بمعدل15 ميكروليتر من كل عينة ضمن الآبار المخصصة لها، يتم الرحلان بوجود تيار كهربائي25 ميلي آمبير لمدة 16 ساعة. بعد الانتهاء من عملية الرحلان الكهربائي توضع الهلامة في محلول الصبغة لليوم التالي ثم ينقل الهلامة إلى الماء المقطر للتخلص من الصبغة الزائدة لتصبح الحزم جاهزة للقراءة.

(تمت مراحل العمل جميعها بدرجة حرارة المخبر و يتم ضبط المثقلة عند التثفيل على درجة حرارة 4 درجة مئوية).

التحليل الإحصائي:

استُخدم البرنامج NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) (Rohlf, 1992). في حساب معامل التشابه الوراثي وفق معامل(Dice,1945) وذلك حسب المعادلة: GS(ij)=2a/(2a+b+c) حيث:

GS(ij)هي معدل التشابه بين الفرد j والفرد a.i عدد الحزم البروتينية الموجودة في الفردين، b و c عدد الحزم الموجودة بشكل منفرد في أحد الفردين. جمعت نتائج تحليل بروتيني التخزين Glutenin و Gliadin في جداول خاصة بكل منها اعتماداً على وجود أو عدم وجود حزم البروتين ذات وزن أو سرعة هجرة محددة، حيث يرمز لوجود الحزمة بالرقم 1 ولعدم وجودها بـ 0. بعد ذلك تم رسم مخطط القرابة بين الأصناف المدروسة بطريقة المتوسط الحسابي للمجموعات الزوجية غير المزانة (UPGMA).

النتائج والمناقشة:

1. **نتائج تحليل أوميغا وألفا غليادين:** بلغ عدد الحزم الناتجة عن عملية الرحلان الكهربائي (13) حزمة متباينة تم إحصاؤها في منطقة أوميغا و غاما غليادين(الشكل1). وحسبت الحركية النسبية للحزم الناتجة عن ترحيل الأصناف المدروسة بناءً على الحزمة المرجعية للصنف الشاهد ماركيز والتي تبلغ حركيتها النسبية RM =50 وفق(Bushuk and Zillman,1978)نلاحظ من الجدول ظهور أول حزمة للعينات المدروسة عند RM=18.6 و قد أشار(MirAli, 2002a) أنه يمكن تمييز أول حزمة للقمح القاسي عند قيمة الحركية النسبية

(RM>20). وتميزت الأصناف القاسية بغياب الحزم 1 و 2 ذات (RM(13.2-16.2 وبوجود الحزمة العاشرة في الصنف أقباش والحزمة السادسة في الصنف شهبا عند (RM(37.8-25.2 على التوالي.

اضافة إلى ذلك تمّيزت الحزمة 8 ذات الحركية النسبية RM=30 بأعلى تكرار 92.86% مقارنة مع الحزمتين 6 - 10 بأقل تكرار 7.14% الجدول(1).

أما الأصناف المحتوية على الحزمة 13 وذات الحركية النسبية (45) فهي كشك، جورجيت دوما 29868، شام7، بحوث9، بحوث11، دوما1، دوما 41004، أكساد1229 وكحلا هدبا. واحتوى الصنف جودا 3 على الحزمة 12 وذات الحركية النسبية (40.8). وقد أشار(Pogna *et al*.,1990 بأن الحزمة غاما غليادين 45 تدل على نوعية بروتين جيد وعجينة جيدة، أما الحزمة غاما غليادين 42 فهي تدل على عجينة سيئة (الجدول1،الشكل1).

نلاحظ من الجدول(2) أن (جودا3) احتوى على حزمة بروتينية واحدة في منطقة أوميغا غليادين في حين تميز(شهبا) بأكبر عدد من الحزم البروتينية، حيث تتميز منطقة أوميغا بالعدد الكبير للحزم البروتينية مقارنة بالمجموعات الأخرى للغليادين مما يعكس تأثيرها على قوة العجين حيث أشار (Mir Ali,2000) في دراسته أن القمح الحوراني المعروف بالنوعية العالية يحمل حزمتين فقط في منطقة (ω).

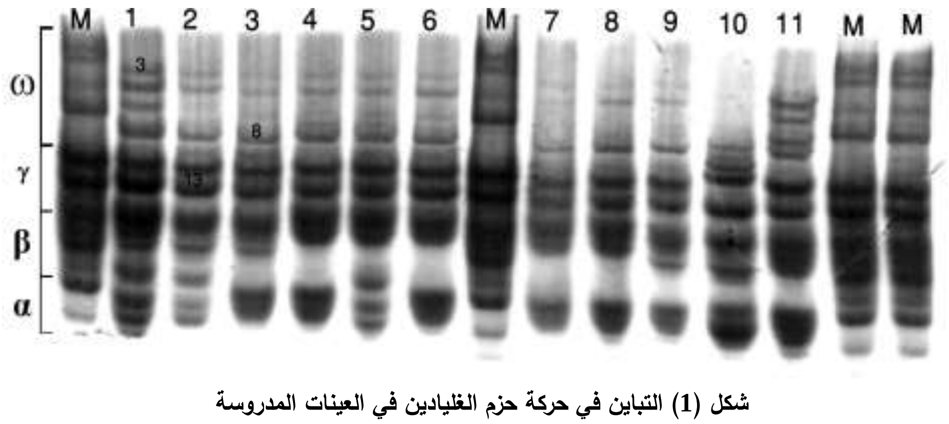
الجدول (1) الحركية النسبية للحزم الناتجة عن تحليل الغليادين في العينات المدروسة.

رقم الحزمة	RM	عدد مرات ظهور الحزمة	% للتكرار	الأصناف والطرز المدروسة
Reference	50	1	–	ماركيز
1	13.2	–	–	–
2	16.2	–	–	–
3	18.6	10	71.43	كشك- جورجيت- دوما 29868- شام7- بحوث9- بحوث11- دوما1- دوما 41004- أكساد1229- كحلا هدبا
4	21.0	2	14.29	شهبا- كحلا هدبا
5	22.8	9	64.29	كشك- جورجيت- دوما 29868- شام7- بحوث9- بحوث11- دوما1- دوما 41004- أكساد1229
6	25.2	1	7.14	شهبا
7	27.0	4	28.57	جودا 2 –شهبا- كشك- كحلا هدبا
8	30.0	13	92.86	جودا 2 -شهبا- كشك- جورجيت- دوما 29868- شام7- بحوث9- بحوث11- دوما1- دوما 41004- أكساد 1229- كحلا هدبا- اقباش
9	33.0	3	21.43	جودا 2- أقباش- جودا 3
10	37.8	1	7.14	أقباش
11	39.0	2	14.29	جودا2 - شهبا
12	40.8	11	78.57	جودا 3- كشك- جورجيت- دوما 29868- شام7- بحوث9- بحوث11- دوما1- دوما 41004- أكساد1229- كحلا هدبا

13	45.0	10	71.43	كشك- جورجيت- دوما 29868- شام7- بحوث9- بحوث11- دوما1- دوما 41004- أكساد1229- كحلا هدبا

الجدول (2) عدد الحزم البروتينية في منطقتي أوميغا و غاما غليادين

الطرز المدروسة	عدد الحزم البروتينية في منطقة أوميغا	عدد الحزم البروتينية في منطقة غاما	العدد الكلي للحزم
كشك	4	2	6
جورجيت	3	2	5
دوما 29868	3	2	5
شام7	3	2	5
بحوث9	3	2	5
بحوث11	3	2	5
دوما1	3	2	5
دوما 41004	3	2	5
أكساد1229	3	2	5
كحلا هدبا	4	2	6
شهبا	5	–	5
جودا 2	4	–	4
جودا 3	1	1	2
أقباش	3	–	3



شكل (1) التباين في حركة حزم الغليادين في العينات المدروسة

:ماركيز،1:كشك،2:جورجيت،3:دوما 29868،4:شام7،5:بحوث9،6: بحوث11،7: دوما1،8: دوما 41004، 9: أكساد1229،10: أقباش،11: كحلا هدبا.

2. نتائج تحليل الغلوتينين ذي وزن جزيئي مرتفعHMW-GS:

كان عدد الحزم الناتجة عن تحليل الغلوتينين ذي الوزن الجزيئي المرتفع 9 حزمة بروتينية (الجدول3

تميزت الحزمة 14 بأعلى تكرار 35.71% مقارنة مع الحزمتين 1−2 بأقل تكرار 7.14%.

إضافة إلى تميز أصناف بحزم بروتينية معينة و غياب حزم بروتينية أخرى، حيث تميز كشك و جورجيت بالحزمة12 واحتواء دوما 41004 على الحزمة11 و جودا3 على الحزمة13 و غياب الحزم (7-6-5-4-3) عن الأصناف المدروسة(الجدول3، الشكل2)

ذكر Payne and Lawrence (1983) أن كل موقع من *Glu-1* يتكون من مورثتين: الأولى ترمز لتحت الوحدة الكبيرة X-type والثانية ترمز لتحت الوحدة الصغيرة Y-typeحيث أشار في دراسته التي أجريت على طرز من مناطق مختلفة إلى وجود 3 أليلات في الموقعGlu-A1 ترمز لـ تحت وحدات (1,2*,null) و11 أليل في الموقع Glu-B1أكثرها شيوعاً(8+7,18+17) و6 أليلات في الموقعGlu-D1 أكثرها شيوعاً (5+10,2+12) وتختلف الحزم فيما بينها بالبنية البروتينية و الاكتشاف الزمني لها .

يبين (الجدول4) أن معظم الأصناف قد احتوت على الأليل Null في الموقع Glu-A1 وكانت نسبة تكرارها 85.71%وهذا يتطابق مع (MirAli,1999) حيث ذكر أن الأقماح القاسية السورية تتميز بالأليل Null في الموقع Glu-A1.

وتحتوي الأصناف دوما 29868 وأقباش على الحزمة 2*التي وجدت بنسبة 14,29%(الجدول4) ، وتشير الدراسات إلى أن تحت الحزمة 2* ذات تأثير إيجابي على نوعية العجين، وهي أفضل من تحت الحزمة Null(Gobaa *et al.*,2006). أما بالنسبة للموقع Glu-B1 فقد وجد صنف وحيد هو شهبا احتوى تحت الحزمتين (7,17+18). أما الأصناف التي احتوت تحت الحزمة (17+18) فهي: كحلا هدبا، أقباش، دوما 41004 ، جورجيت وكشك.

كما احتوت الأصناف جودا 3، بحوث 9 وبحوث 11 على تحت الحزمة (6+8). وتميزت الأصناف جودا 2، أكساد 1229، دوما 1 وشام 7 بوجود تحت الحزمة (7+8). تشير الدراسات أن الموقع Glu-B1 الذي يحتوي على تحت الحزمتين(7+8 و17+18) ذي دلالة على نوعية العجينة الجيدة ضمن الأصناف القاسية على عكس تأثير تحت الوحدة 20 التي وجدت في دوما29868. وقد ذكر (معلا وآخرون،2008) أن تحت الحزمتين 18+17 لهما أثر أقوى من 8+7 في قوة العجين.

ويرجع الاختلاف في نوعية العجين في الأصناف الحاوية على تحت الحزمة (17+18) و الاصناف الحاوية على تحت الوحدة 20 إلى الاختلاف بعدد الحمض الأميني السيستيين الذي يعد مسؤولا عن الكمية الأكبر للبوليميرات ذات الأحجام الكبيرة المرتبطة بالزوج (17+18) مقارنة بالزوج(20x+20y) فالاختلاف الأكثر تميزاً بين هذين الأليلين هو غياب حمضين أمينيين من السيستيين في تحت الوحدة(20) مقارنة مع تحت الحزمة (17+18) (1996 *et al* Buonocore).

ووجد (MirAli *et al.*,1999b) في دراسة على الأقماح القاسية السورية أن العدد الكلي للحزم في منطقة HMW-GS تراوح بين 2-3 للصنف الواحد نظراً لوجود المورث غير المعبر عن نفسه (null allele)على الجينوم A في نسبة لا بأس بها من الأصناف و ذلك لأن المورث Y-type الموجود في الموقعGlu-A1 صامت في الأقماح الرباعية و السداسية بينما يعبر المورث X-type الموجود في الموقع ذاته و المورث Y-type في الموقع Glu-B1 فقط في بعض الأصناف(Labuschagne,2006).

جمعت البيانات الناتجة عن التقانتين وكان العدد الكلي للحزم 27 حزمة متباينة وأدرجت ضمن البرنامج الإحصائي، ورسمت شجرة القرابة الوراثية التي تظهر التشابه الوراثي مابين الطرز المدروسة. أظهر مخطط التحليل العنقودي(الشكل3) أن نسبة التباين الوراثي بين الأصناف المدروسة كانت كبيرة، مع وجود نموذج ضم صنفين متطابقين هما (بحوث9، بحوث11) كانت نسبة الاختلاف الوراثي بينها منخفضة ، ويمكن أن يكون سبب انخفاض نسبة التنوع بين الأصناف المحسنة إلى أن الانتخاب من قبل المربين يهدف لتحسين صفات متشابهة، مما أدى لانعدام أو انحفاض المسافات الوراثية بينها، أي أنها كانت تعطي تطابقاً في تحت وحدات الغلوتينين و الغليادين (معلا وأخرون،2008) و قد ذكر Baenziger et al.,(2001) أن إجراءات التربية الحديثة قد أدت لانخفاض مستوى التنوع الوراثي في الأصناف المحسنة، وخاصة إذا كانت الصفة نوعية Qualitative trait أي أن المورثات المسؤولة عن توريثها قليلة.

كما أظهرت نتائج دراسة (معلا وأخرون،2008) أنه من أصل 37 صنفاً مدروساً من القمح القاسي تميز 13 منها بنماذج رحلان مفردة مميزة لكل صنف على حدة وبلغت نسبة التنوع الوراثي 56%.

بلغت قيمة متوسط نسبة التشابه الوراثي بين الأصناف 49%. ويلاحظ ضمن مخطط التحليل العنقودي(الشكل3) وجود قرابة وراثية بين بعض الأصناف المحلية والمحسنة وذلك لوجود تهجينات بينها، لكون الأصناف المحسنة منحدرة من الأصناف المحلية.

وتراوحت قيمة bootstrap لمجموع الطرز المدروسة بين (8-100%)(الشكل3) وقد بين Tavale,(2001) أنه إذا كانت قيمة bootstrap أقل من 50% فإن موقع الطرز يمكن أن يتغير عند استخدام مؤشرات أخرى أو في حال إدخال طرز أخرى للدراسة.

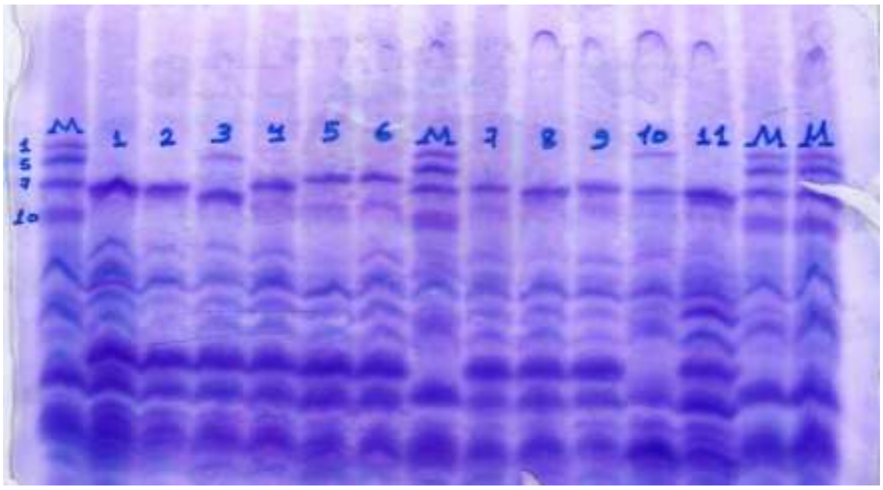
وهكذا تعتبر بروتينات التخزين محوراً لعدد كبير من الدراسات الوراثية الأساسية والتطبيقية التي ساهمت بتحديد هوية أهم طرز القمح الوراثية الموجودة في سورية، وذات الأهمية لبرامج التربية باستخدام طرائق A-PAGE و SDS-PAGE وتحديد الخصائص التكنولوجية لها، حيث تتوقف جودة المنتج النهائي على جودة الحبوب المستخدمة في صناعة هذه المنتجات. وتأتي قدرة دقيق القمح على تكوين عجينة لزجة ومرنة عند خلطه بالماء وفقا لمحتواه من البروتينات، فالدقيق الذي يحتوي على عدد كبير من جزيئات البروتين ذي النوعية العالية يتميز بالصفتين الهامتين لإنتاج الخبز الجيد (صفة المرونة والمطاطية) الناجمة عن ارتباط الغلوتينين والغليادين مع بعضهما.

الجدول (3) الحزم الناتجة عن تحليل الغلوتينين في الأصناف المدروسة.

رقم الحزمة	عدد مرات ظهور الحزمة	%للتكرار	الأصناف والطرز المدروسة
1	1	7.14	أقباش
2	1	7.14	دوما 29868
3	*	*	*
4	*	*	*
5	*	*	*
6	*	*	*
7	*	*	*

8	2	14.29	بحوث9- بحوث11
9	3	21.41	شهبا- دوما1- أكساد1229
10	2	14.29	أقباش- كحلا هدبا
11	4	28.57	جودا2 - شهبا- شام7- دوما 41004
12	2	14.29	كشك- جورجيت
13	3	21.41	دوما 29868- شهبا- جودا 3
14	5	35.71	جودا2 - شام7- دوما 1 – بحوث 11- بحوث 9

* عدم ظهور حزمة بروتينية.



شكل (2) التباين في حركة حزم الغلوتينين في العينات المدروسة

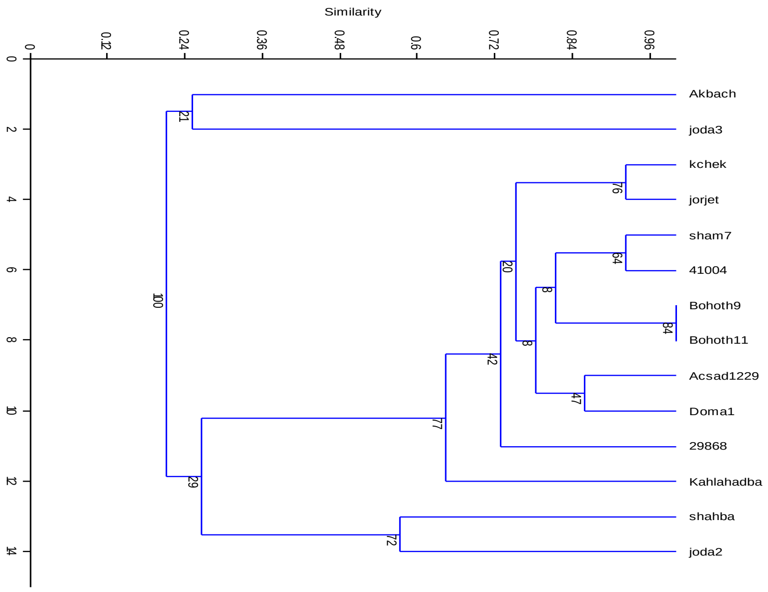
M:ماركيز،1:كشك،2:جورجيت،3:دوما 29868،4:شام7،5:بحوث9،6: بحوث11

7: دوما1،8: دوما 41004،9: أكساد1229،10: أقباش،11: كحلا هدبا

جدول (4) توصيف الأقماح المدروسة من حيث ألليلات مواقع HMW-GS

الأصناف	GLU-B1	GLU-A1
كشك	17+18	Null
جورجيت	17+18	Null
دوما 29868	20	2*
شام 7	7+8	Null
بحوث 9	6+8	Null
بحوث11	6+8	Null
دوما1	7+8	Null
دوما41004	17+18	Null
أكساد1229	7+8	Null
أقباش	17+18	2*

كحلا هدبا	17+18	Null
جودا 2	7+8	Null
شهبا	7,17+18	Null
جودا 3	6+8	Null



شكل (3) مخطط التحليل العنقودي للعلاقات الوراثية بين الأصناف القاسية.

الاستنتاجات والتوصيات:

– تباينت الطرز المدروسة في درجة تشابهها و كانت أعلى نسبة تشابه بين الصنفين (بحوث9 وبحوث11)بالمقابل أظهر الصنفان جودا 3 وأقباش أقل نسبة تشابه وراثي حيث بلغت 25% بالإضافة إلى أن قيمة bootstrap كانت منخفضة جداً (21%) وبشكل عام بلغت قيمة متوسط نسبة التشابه الوراثي بين الأصناف 49%.

– تميزت الطرز الوراثية كشك– جورجيت– دوما41004– كحلا هدبا باحتوائها على الحزمة 45 التي تعطي دلالة على عجينة ذات مواصفات تكنولوجيا عالية.

كما احتوت على تحت الحزم (17+18) ذات تأثير إيجابي على نوعية العجين.

– تظهر النتائج كفاءة طريقتي تحليل الغلوتينين و الغليادين في الكشف عن التباينات الوراثية وتحديد هوية أهم طرز القمح الوراثية الموجودة في سورية ذات الأهمية لبرامج التربية باستخدام طرائق A-PAGE و SDS-PAGE.

– تتميز A-PAGE بالعدد الكبير للحزم مقارنة بـ SDS-PAGE نتيجة التعقيد التي تتصف به الغليادينات وذلك لوجود العديد من الجينات التي تمتلك عدداً من الأليلات مما يؤدي إلى مجموعات أليلية مختلفة تميز الطرز المختلفة .

أما تقنية SDS-PAGE فيمكن استخدامها للكشف عن التغاير الوراثي بخلاف A-PAGE،حيث يتم دراسة التنوع الوراثي بين الطرز المختلفة للقمح القاسي عن طريق الاختلاف الأليلي الموجود في الجينوم B فقط وذلك لغياب الجينوم D في الأقماح القاسية .

– إجراء دراسات تكنولوجية على هذه الطرز لبيان مدى تطابق نتائج المؤشرات البيوكيميائية مع صفات وخصائص عجينة الخبز التكنولوجيا.

المراجع:

1. معلا، محمد يحيى؛ الحكيم، سوسن. التباينات الوراثية للغليادينات في القمح ثنائي الحبة *T.dicoccum* باستعمال الرحلان الكهربائي. مجلة جامعة تشرين – سلسلة العلوم الزراعية ، المجلد 15 العدد 1، 1992،181.
2. معلا، محمد؛ مير علي، نزار؛ كلحوت، عبد الرحمن؛ أشتر، سها. استخدام المؤشرات البيوكيميائية كطرائق فعالة في الكشف عن التباين الوراثي ضمن أصناف القمح السداسية والرباعية. مجلة جامعة تشرين – سلسلة العلوم البيولوجية ، المجلد 30 – العدد 1 – 203,2008 . والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية. 2007.
3. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة

4- BABILI, M. *Wheat perspective in Syria. Commodity Brief* No1. Ministry of Agriculture & Agrarian Reform, National Agricultural Policy Center (NAPC), 2006. 8p.

5- BAENZIGER,P.S;SHELTON,D.R;SHIPMAN,M.J;BOSCH,G. *Breeding for End-Use Quality*:Reflection on the Nebraska experience.Euphytica,119,2001,95-100.

6- BECCARI.De Frumento De Bononiensi Scientiarum ET Atrium Instituto Ateque Academia Commentaii, Ii. Part I ,1745, PP.122-127. In GIANIBELLI,O.R. LARROQUE,F. MACRITCHIE,ANDC.W.WRIGLEY. *Biochemical, Genetic, and Molecular Characterization of Wheat Endosperm Proteins*. American Association of Cereal Chemists,2001.

7- BUONOCORE, F;CAPORALE, C; LAFIANDRA, D. *Purification and characterisation of High Mr Glutenin subunit 20 and its Linked y-type subunit from durum wheat.* Journal of Cereal Science ,VOL 23, 1996,195-201.

8- BUSHUK, W; ZILLMAN, R. R. *wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams I.* Apparatus, methods and nomenclature. Can. J. Plant Sci,58,1978,505-515.

9- COOKE, R. J;LAW, J. R. *Seed storage protein diversity in wheat varieties*. Plant Varieties and Seeds,11,1998,159–167.

10- DICE,L.R. *Measures of amount of ecologic association between species*.Ecology.26,1945,297-302.

11- FAO. Annual Agriculture Statistical Food and Agriculture Organization of United Nations FAO, Roma. Italy. 2007.

12- GOBBA.S;KLEIJER.G;STMP.P.*2**,A new high molecular weight glutenin subunit coded by Glu-A1:its predicted structure and its impact on bread –making quality.plant breeding126*, 2007,1-4 .

13- GUPTA, P. K. ; MIR, R. R; MOHAN, A;KUMAR ,J. *Wheat Genomics: Present Status and Future Prospects.* Int. J. Plant Genomics, 2008, 73p.

14- HARLAN, J.R . *The living fields our agricultural heritage*. Cambridge University Press, Cambridge.1995,pp 271
15- HARSCH, S; GÜNTER, T; KLING, CH. I. ; ROZYNEK, B. *Characterization of spelt (Triticum spelta L.) forms by gel-electrophoretic analyses of seed storage proteins. I. The gliadins*. Theor. Appl. Genet. 94,1997, 52–60.
16- LAEMMLI,U.K.*Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophageT4*.Nature,227,1970,680-685.
17- LABUSCHAGNE.M.T;VILJOEN.C.D;KOEN.E. *The use of gluten proteins to predict bread and durum wheat quality*. Submitted in fulfilment of the requirements of the degree of Philosophiae Doctor, in the Department of Plant Sciences (Plant Breeding), Faculty of Natural and Agricultural Sciences University of the Free State Bloemfontein Republic of South Africa. 2006.
18- MACRITCHIE, F. *Role of Polymeric Proteins in Flour Functionality. In Wheat kernel proteins: molecular and functional aspects*. Bitervo, Italy Universita degli studi Della Tuscia. 1994, 145-150.
19- METAKOVSKY, E.V; BRANLND. G.*Genetic diversity of French common wheat germplasm based on gliadin alleles.* Theoretical and Applied Genetics. 96, 1998, 209-218.
20- MIR ALI, N. *Gliadins polymorphism and cluster analyses of Syrian grown durum wheat*. Plant Breeding and Seed Science.46, 2002a,51-62.
21- MIR ALI, N. *Cluster analysis of Syrian grown bread wheat genotypes based on gliadin composition*. J. Genet and Breed.56,2002b,177-183.
22- MIR ALI, N. *Heterogeneity within old and modern durum and bread wheat grown in Syria using the A-PAGE and SDS–PAGE electrophoresis techniques*. Plant Varieties and Seed.13,2000,149-157.
23- MIR ALI, N; ARABI, M. I. E. ; AL- SAFADI, B. *High molecular weight glutenin subunits composition of Syrian grown bread wheat and its relationships with gluten strength*. J. Genetics & Breeding, 53, 1999a, 237-245.
24- MIR ALI , N; ARABIA, M . I. E; AL- SAFADI, B. *Frequencies of high and low molecular weight glutenin subunits in durum wheat grown in Syria*. Cereal Research communications, 27,1999b,301-305.
25- NACHIT, M. M. *Durum breeding research to improve dryland productivity in the Mediterranean region.* In SEWANA (South Europ, West Asia and North Africa) Durum Research Network. 1998, PP. 1-15.
26- OSBORNE, T. B. *The proteins of the wheat kernel*. Carnegie Inst., Wash. Publ. No. 84,1907. In GIANIBELLI ;LARROQUE, O. R; MACRITCHIE, F; WRIGLEY1,C. W. *Biochemical, Genetic, and Molecular Characterization of Wheat Endosperm Proteins*. American Association of Cereal Chemists, 2001.
27- PAYNE, P. I; LAWRENCE, G. J. *Catalogue of alleles for the complex genoloci GluA1, GluB1, GluD1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat,* Journal of Cereal Res. Common, Vol.11, 1983 ,PP.29-35.
28- PAYNE, P. I;HOLT, L. M; LAW, C. N. *Structural and genetical studies on the high molecular weight subunits of wheat glutenin. 1. Allelic variation in subunits amongst varieties of wheat (T. aestivum L.).* Theor. Appl. Genet. 60, 1981,229-236.
29- PAYNE, P. I; HARRIS, P.A; LAW, C.N; HOLT, L.M; BLACKMAN, J.A. *The high molecular weight subunits of glutenin : Structure genetics and relationships to bread-making quality.* Ann. Technol. Agri. 29(2),1980, 309-320.

30- POGNA, N.E; AUTRAN, J. C; MELLINI, F; LAFINDRA, D; 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.
31- POMERANZ, Y. *Chemical composition of kernel structures.* in: Wheat Chemistry and Technology. AACC International: St. Paul, MN. Vol. 2,1988, Pages 97- 158.
32-PORCEDDU, E; TURCHETTA, T; MASC,S; D'ODVIDIO, R; LAFIANDRA, D;KASARDA, D.D;IMPIGLIA. A; NACHIT, M.M;TURCHETTA,T;MASCI.S; *Variation in endosperm protein composition and technological quality properties in durum wheat*. Journal Euphytica.1998.
33- RADIĆ, M. H; SAAM, C; HÜLS, R; KLING, I. CH. ;HESEMAN, C.U. *Characterization of spelt (Triticum spelta L.) forms by gel-electrophoretic analyses of seed storage proteins. Comparative analyses of spelt and Central European winter wheat (Triticum aestivum L.) cultivars by SDS-PAGE and acid-PAGE.* Theor. Appl. Genet., 97,1998, 1340–1346.
34- 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.45, 2005,1256-1263.
35- REDAELLI, R. P. K; NG, W; POGNA, N.E. *Allelic variation at the storage protein loci of 55us-grown white wheat.* Plant Breeding. 116,1997,429-436.
36- ROHLF, F. J. Ntsys-PC: *Numerical taxonomy and multivariate analysis system version* 1.70.state University of New York, Stony Brook N. Y., USA. 1992.
37- SHUAIB, M., ZEB, A., ALI, Z., ALI, W., AHMAD T; KHAN, I. *Characterization of wheat varieties by seed storage protein Electrophoresis* ,African Journal of Biotechnology, Vol. 6 (5),2007, pp. 497-500.
38- TAVALE.S.T. *molecular analysis of wheat genome using ISSR and RAPD markers*. a thesis submitted to the university of pune for the degree of master of science in chemistry (biochemistry plant molecular biology unit,division of biochemical sciences,national chemical laboratory, pune (india). 2001.
39- WRIGLEY, C.W. *Single-Seed identification of wheat varieties. Use of grain hardness testing, electrophoretic analysis , and a rapid test paper for phenol reaction.* J. Sci. Food Agric .27,1976,429-32.
40- WRIGLEY, C. W. *Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins*. In: Linskens H.F.,Jackson J.F.:Seed analyses. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.1992,17–41.