

# طبقه‌بندی ژنتیکی گندمهای ایران با استفاده از الکتروفورز پروتئینها (SDS-PAGE)، لیزر اسکانر دنسیتومتری (LSD) و تجزیه‌ای خوشه‌ای<sup>۱</sup>

علی مسعودی نژاد، بهمن یزدی صمدی، سیروس عبدالمیشانی  
و محمدنبی سربلوکی

به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادان دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و  
استاد مرکز تحقیقات بیوشیمی - بیوفیزیک ایران  
تاریخ پذیرش مقاله ۷۶/۳/۲۸

## خلاصه

الگوی پروتئینهای تفکیک شده بر روی ژل منعکس کننده ژنوم ارقام بوده و لذا می‌تواند به عنوان یک صفت و روش جهت طبقه بندی و شناسایی ارقام استفاده شود. در این مطالعه تعدادی از گندمهای ایران انتخاب و پس از انجام الکتروفورز (SDS - PAGE) برای پروتئین ذخیره‌ای آندوسپرم (گلوٹنین)، از پروفیل مربوط به کلیه باندهای هر نمونه (HMW-Glutenin, w-Gliadin و LMW-Glutenin) با استفاده از دستگاه لیزر اسکانر منحنی‌هایی بدست آمد. جهت طبقه‌بندی از روش آماری تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. صفات مورد مطالعه، ژنوتیپ از نقطه نظر آللهای HMW-GS، جایگاههای ژنی کنترل کننده زیرواحدهای HMW-GS و سطوح زیر منحنی ناحیه‌های مختلف پروفیل الکتروفورزی بودند. درصد تشابه با استفاده از ضرایب همبستگی پیرسون، کانبرا، وینستین و فاصله اقلیدسی محاسبه گردید. بر اساس ماتریس تشابه یا فاصله، دندروگرام رسم گردید و ژنوتیپها گروه‌بندی شدند. برای مکانهای ژنی کنترل کننده HMW - Glutenin از روشهای مختلف تجزیه خوشه‌ای (UPGMA, SL, CL, WPGMA) استفاده شد که مناسبترین نتایج با روش UPGMA بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز، گندم، لیزر، دنسیتومتری، تجزیه خوشه‌ای، تنوع ژنتیکی، گلوٹنین

## مقدمه

در بررسی تعدادی نمونه زنده یا غیر زنده تشخیص اینکه کدامیک از نمونه‌ها بیشتر به هم شبیه هستند یا از همدیگر متفاوتند ضروری و مورد نظر است. بهترین راه رسیدن به این هدف گروه بندی و طبقه بندی نمونه‌ها<sup>۲</sup> می‌باشد (۱). طبقه بندی به شرح زیر تعریف شده است: «طبقه بندی عبارتست از دسته بندی موجودات به گروههای مختلف بر اساس چگونگی و نوع روابط آنها» (۲). شناسایی را نیز اینگونه تعریف نموده‌اند: شناسایی عبارتست از اختصاص دادن یک مورد یا موضوع ناشناخته جدید به یک دسته که

قبلاً طبقه بندی شده است (۲، ۳). روشهای مختلفی برای شناسایی و طبقه بندی گیاهان زراعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. معمولاً اساس طبقه بندی شباهت بین گیاهان می‌باشد. شباهتها را می‌توان بر اساس صفات یا خصوصیات خاصی بیان کرد که این خصوصیات می‌توانند مستقیماً نتایج حاصل از تجزیه DNA باشند یا صفات فنوتیپی که خود منعکس کننده تظاهر ژنها در سیستم ژنتیکی موجود می‌باشند (۴).

تاکنون برای طبقه بندی گیاهان زراعی از جمله گندم از صفات زراعی و خصوصیات مورفولوژیکی استفاده شده است که اصطلاحاً روش تاکسونومیک نامیده می‌شود (۵، ۶). اکثر صفات فوق

تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند.

(مسعودی نژاد و یزدی صمدی (۱) و تنها برخی از صفات مورفولوژیکی و فنوتیپی هستند که تحت تأثیر شرایط محیطی قرار نمی‌گیرند (۹). با این وجود در بررسی‌ها و طبقه‌بندیها از این صفات بعلت غیر قابل تکرار بودن، مشکل بودن و صرف وقت فراوان استفاده زیادی بعمل نمی‌آید.

امروزه بیشتر از روشهای مولکولی که DNA و پروتئین موجود را مورد بررسی قرار می‌دهند در طبقه‌بندی و شناسایی ارقام استفاده می‌کنند زیرا تحت تأثیر شرایط محیطی قرار نمی‌گیرند (۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳). ترکیب و ترتیب اسیدهای آمینه که واحدهای اصلی ساختمان پروتئین هستند توسط توالی<sup>۱</sup> نوکلئوتیدهای<sup>۲</sup> مربوط به DNA موجود تعیین می‌شوند، لذا میتوان از پروتئینها که اولین محصول فعالیت ژنها هستند (۱۴) بعنوان نشانگرهایی<sup>۳</sup> برای ژنهای ساختمانی<sup>۴</sup> که آنها را کد کرده‌اند در شناسایی و طبقه‌بندی ارقام استفاده نمود (مسعودی نژاد و یزدی صمدی (۱).

استفاده از روشهای شیمیایی در تاکسونومی<sup>۵</sup> نظیر کروماتوگرافی و الکتروفورز در دو دهه اخیر پیشرفت چشمگیری داشته است (۱۵). انجام الکتروفورز در شرایط استاندارد و قابل تکرار برای پروتئینهای خاص نظیر گلوٹین تولید پروفیل‌هایی متشکل از باندهای پلی پپتیدی (HMW-GS) می‌نماید که متمایز کننده ارقام بوده و می‌توان از آن برای انگشت نگاری<sup>۶</sup> استفاده نمود.

در چند سال اخیر علاوه بر روشهای بیوشیمیایی از تجزیه های آماری چند متغیره<sup>۷</sup> و روشهای محاسباتی<sup>۸</sup> نیز در طبقه بندی گیاهان زراعی استفاده شده است (۱۶، ۱۷، ۱۸). روشهای آماری مختلفی جهت طبقه بندی بکار می‌روند که از آن جمله می‌توان به روشهای آماری تجزیه به عاملهای اصلی و تجزیه خوشه ای نام برد. در این روش ابتدا درصد تشابه بر اساس روشهای مختلفی نظیر ضریب همبستگی پیرسون، ضریب فاصله اقلیدسی<sup>۹</sup>، ضریب فاصله کازین<sup>۱۰</sup>، ضریب متریک کانبرا<sup>۱۱</sup> و غیره محاسبه و سپس بر اساس ماتریس تشابه یا ماتریس فاصله<sup>۱۲</sup> حاصل، دندروگرام<sup>۱۳</sup>

رسم شده که بر اساس آن نیز طبقه بندی صورت می‌گیرد.

در این مطالعه تعدادی از گندمهای ایران انتخاب و پس از انجام الکتروفورز (SDS - PAGE) برای پروتئینهای ذخیره‌ای انسوسپرم از پروفیل مربوط به کلیه باندهای هر نمونه (HMW-Glutenin, ω-Gliadin, LMW-Glutenin) با استفاده از دستگاه لیزر اسکانر منحنی‌هایی بدست آمد، سپس برای صفات مختلف از روشهای گوناگون تجزیه خوشه‌ای استفاده شد.

## مواد و روشها

### الکتروفورز

۳۰ رقم از ارقام مختلف گندم مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱). الکتروفورز و دنسیتومتری بر اساس مطالعات قبلی بود (مسعودی نژاد و یزدی صمدی ۱۳۷۲).

صفات مورد مطالعه

ارقام از سه جنبه مختلف مورد مطالعه قرار گرفتند.

الف: برای ژنوتیپ از نقطه نظر HMW-GS

ب: سطح زیر منحنی قسمت‌های مختلف پروفیل (HMW-GS, LMW-GS, ω-gliadin)

ج: مکانهای ژنی کنترل کننده HMW-GS

برای صفت اخیر کد گذاری بصورت جدول شماره ۲ انجام شد.

برای هر کدام از صفات فوق درصد و ماتریسهای تشابه از روشهای مختلفی بشرح زیر محاسبه شد.

الف: ضریب تشابه از روش (۲۱) محاسبه شد.

$$BS = 2 ( Nab ) / ( Na + Nb )$$

BS: میزان تشابه بین دو رقم

Nab: تعداد باندهای مشترک در دو رقم A و B در پروفیل مورد نظر در ژل).

Na: تعداد باندها در رقم A

Nb: تعداد باندها در رقم B

ب: پس از تبدیل لگاریتمی اعداد مربوط به سطوح زیر منحنی‌ها، ضرایب تشابه با استفاده از فاصله اقلیدسی متوسط (۱۷ و ۲۲)

1 - Sequence

2- Nucleotides

3 - Markers

4-Structural Genes

5 - Chemotaxonomy

6 - Fingerprinting

7- Multivariate Statistical Analysis

8- Euclidean Distance

9- Cosine Distance

10-Canbern isometric coefficient

11-Similarity

12- Distance Matrix

13- Dendrogram

جدول ۲ - کدهای صفات برای مکانهای ژنی HMW-glutenin

GLU-1			
ارقام	GLUA1	GLUB1	GLUD1
آنزا	۰	۲	۰
بیات	۲	۴	۲
کاوه	۰	۴	۲
یوکورا	۱	۴	۲
نوبد	۰	۰	۲
آذر	۰	۲	۱
طیسی	۰	۲	۰
آزادی	۲	۲	۰
مغان-۱	۰	۲	۰
مغان-۲	۰	۵	۲
اروند-۱	۰	۲	۰
کرج-۳	۲	۶	۰
عطایی	۰	۲	۰
امید	۰	۲	۰
مارون	۱	۲	۲
فلات	۱	۳	۲
ناز	۱	۵	۲
ویری اس	۱	۳	۲
رشید	۰	۲	۰
گلستان	۰	۴	۲
خزر-۱	۲	۵	۰
شاه پسند	۰	۳	۰
کراس امید	۱	۳	۰
بیستون	۰	۲	۰
شعله	۰	۱	۰
سرداری	۲	۲	۰
ماهوتی یزد	۰	۲	۲
قرمز گندم باقی	۰	۲	۰
سفید گندم باقی	۲	۲	۰
شاهی	۰	۲	۲

جدول ۱ - ترکیبات زیرواحدهای HMW-glutenin در ارقام

HMW - GLUTENIN SUBUNITS				
ردیف	ارقام	1A	1B	1D
۱	آنزا	N	7+8	2+12
۲	امید	N	7+8	2+12
۳	یوکورا	1	17+18	5+10
۴	ناز	1	13+16	5+10
۵	ویری اس	1	7+9	5+10
۶	کراس امید	1	7+9	2+12
۷	بیستون	N	7+8	2+12
۸	شعله	N	20	2+12
۹	مغان-۱	N	7+8	2+12
۱۰	مغان-۲	N	13+16	2+12
۱۱	کرج-۳	2*	13+19	2+12
۱۲	آذر	N	7+8	3+12
۱۳	قرمز گندم باقی	N	7+8	2+12
۱۴	سفید گندم باقی	2*	7+8	2+12
۱۵	شاهی	N	7+8	2+12
۱۶	رشید	N	7+8	3+12
۱۷	فلات	1	7+9	5+10
۱۸	گلستان	N	17+18	5+10
۱۹	عطایی	N	7+8	2+12
۲۰	اروند-۱	N	7+8	2+12
۲۱	کراس اروند	1	7+8	5+10
۲۲	بیات	2*	17+18	2+12
۲۳	خزر-۱	1	7+8	2+12
۲۴	کاوه	N	17+18	5+10
۲۵	نوبد	N	7	5+10
۲۶	طیسی	N	7+8	2+12
۲۷	آزادی	2*	7+8	2+12
۲۸	ماهوتی یزد	N	7+8	2+12
۲۹	شاه پسند	N	7+8	2+12
۳۰	سرداری	2*	7+8	2+12

بدست آمد.

n: صفات مورد مطالعه (در اینجا سه صفت)

X<sub>ij</sub>: مقدار صفت i برای فرد j

X<sub>ik</sub>: مقدار صفت i برای فرد k

$$d_{jk} = [\sum_{i=1}^n (x_{ij} - x_{ik})^2 / n]^{1/2}$$

ج: ضرایب تشابه در اینجا بر اساس فاصله اقلیدسی (بند ب) و

ضریب همبستگی پیرسون<sup>۱</sup> محاسبه شد (۲۱).

$$\sum_{i=1}^n x_{ij}x_{ik} - (1/n)(\sum_{i=1}^n x_{ij})(\sum_{i=1}^n x_{ik})$$

$$r_{jk} = \frac{\sum_{i=1}^n x_{ij}x_{ik} - (1/n)(\sum_{i=1}^n x_{ij})(\sum_{i=1}^n x_{ik})}{\{[\sum_{i=1}^n x_{ij}^2 - (1/n)(\sum_{i=1}^n x_{ij})^2][\sum_{i=1}^n x_{ik}^2 - (1/n)(\sum_{i=1}^n x_{ik})^2]\}^{1/2}}$$

تجزیه خوشه‌ای

برای تجزیه‌ای خوشه‌ای از روشهای ۲CL، ۳UPGMA، ۲SL و

۵WPGMA استفاده گردید. با مقایسه روشهای مختلف مشاهده

گردید که مناسبترین نتایج با روش UPGMA بدست می‌آید که در

ادامه بیشتر به ذکر نتایج حاصل از آن پرداخته می‌شود.

### نتایج و بحث

در شکل شماره ۱ نتایج الکتروفورز یک بعدی<sup>۶</sup> برای

تعدادی از ارقام مورد مطالعه مشاهده می‌شود. در شکل ۲ نیز نتایج

اسکن برای بعضی از نمونه‌ها آورده شده است.

مناطق مختلف پروفیل‌ها (HMW-Glutenin

، LMW-Glutenin ، ω-Gliadin) روی اشکال مشخص شده

است.

الف: تجزیه خوشه‌ای ارقام از نقطه نظر باندهای

### HMW-Glutenin

فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA

در شکل ۳ دیده می‌شود. محور درصد تشابه (BS) در نقاط

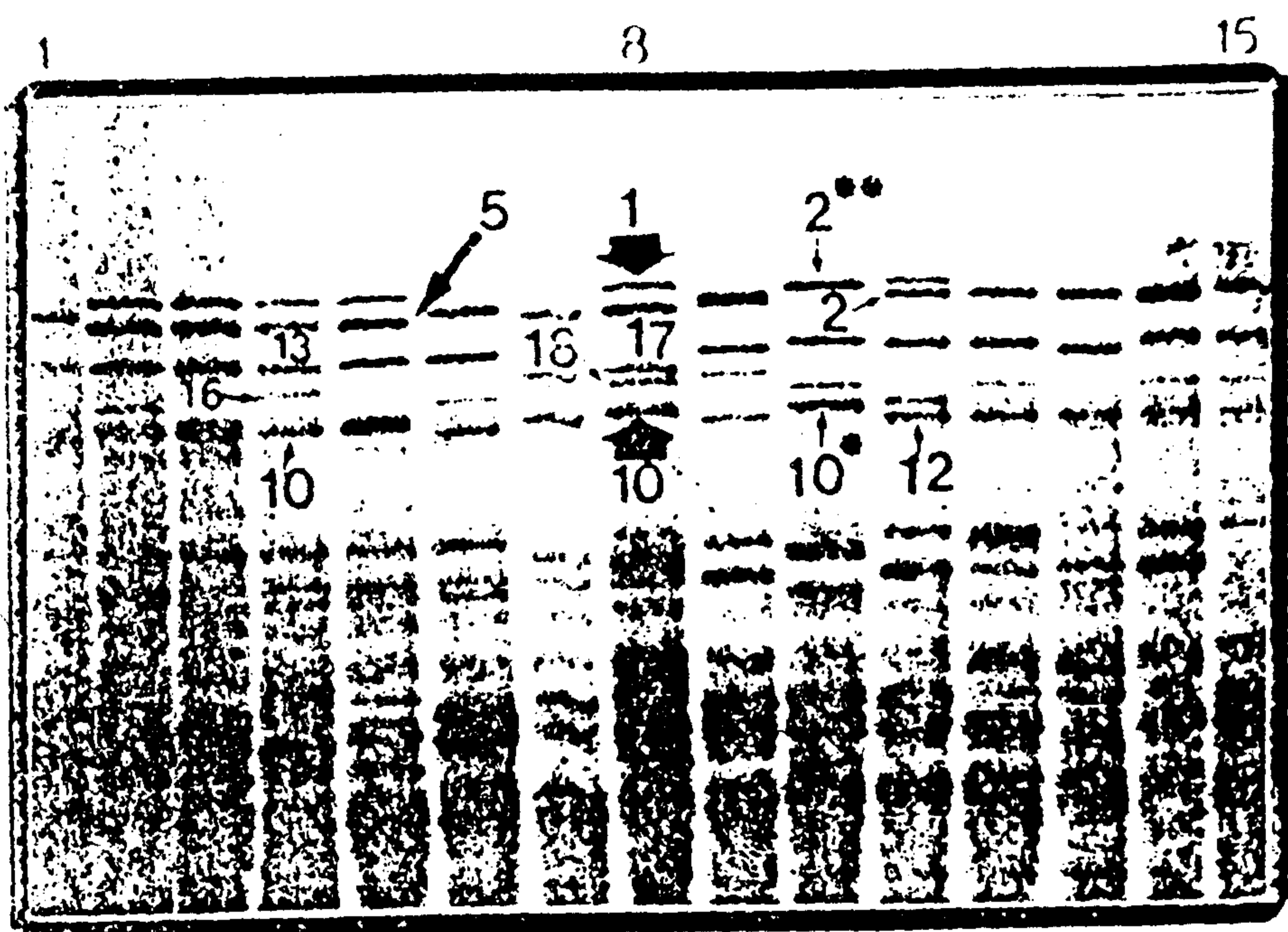
مختلف بریده شد. تعداد کلاسترهای حاصل به همراه دامنه تشابه و

میزان دامنه در جدول شماره ۳ آمده است. بهترین برش در

دامنه 0.455 ≤ BS ≤ 0.525 می‌باشد (مقدار

دامنه در حدود 0.07 است) که چهار کلاستر بشرح زیر داریم:

کلاستر اول: ناز، ویری‌اس، فلات، کراس‌اروند، نوید



شکل ۱- زیر واحدهای HMW-glutenin در ارقام گندم

### HMW - GLUTENIN SUBUNITS

ردیف	ارقام	1A	1B	1D
۱	آنزا	N	7+8	2+12
۲	کراس‌اروند	1	7+8	5+10
۳	فلات	1	7+9	5+10
۴	ناز	1	13+16	5+10
۵	ویری‌اس	1	7+9	5+10
۶	رشید	N	7+8	3+12
۷	گلستان	N	17+18	5+10
۸	یوکورا	1	17+18	5+10
۹	بیواس	2*	13+16	2+12
۱۰	سرخ‌تخم سفید	N	7+8	2**+10*
۱۱	کراس‌امید	1	7+9	2+12
۱۲	بیستون	N	7+8	2+12
۱۳	شعله	N	20	2+12
۱۴	سفیدگندم باقی	2*	7+8	2+12
۱۵	آنزا	N	7+8	2+12

1 - Pearson Product-Moment

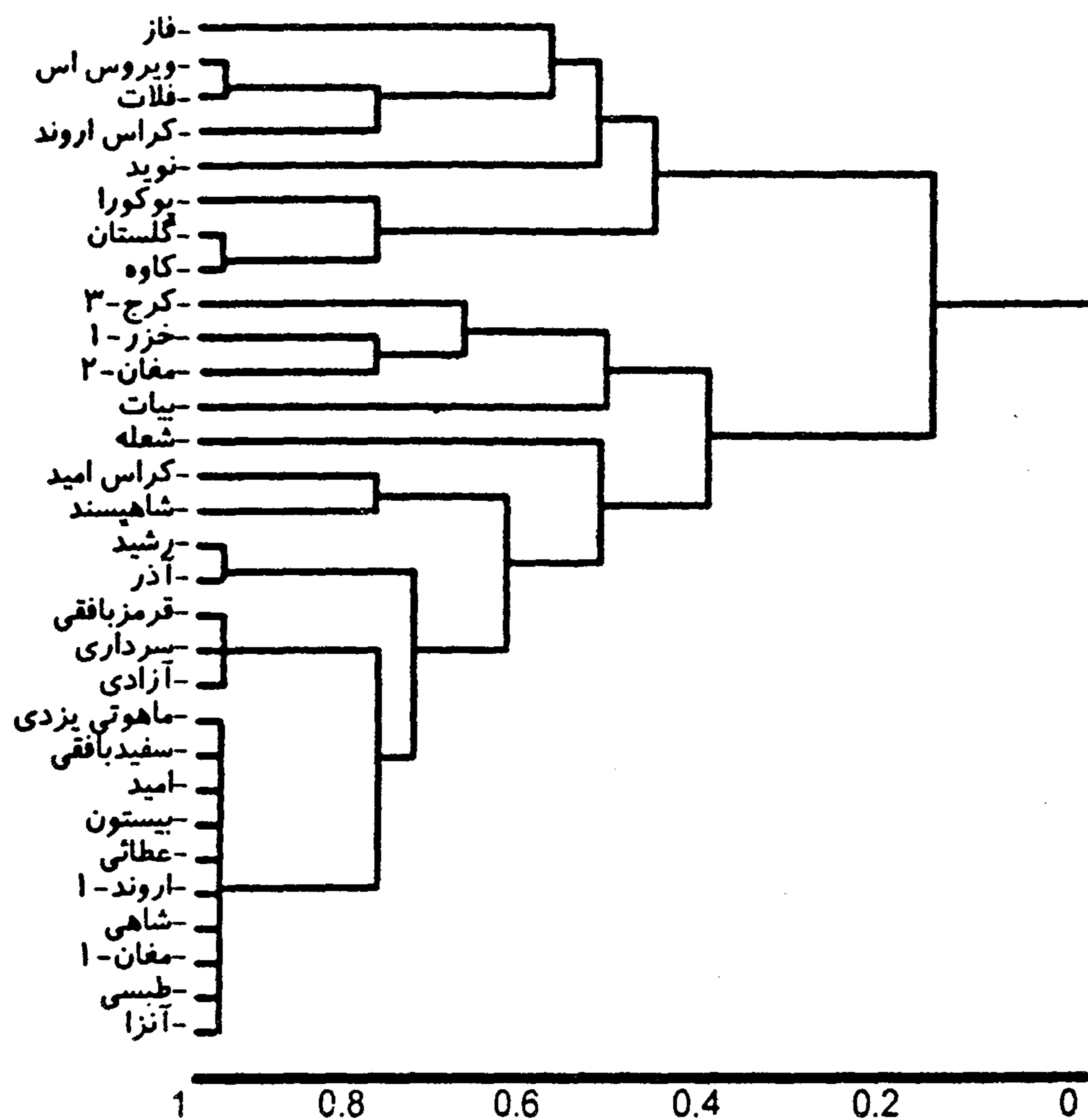
2 - Single Linkage

3 - Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Means

4 - Complete Linkage

5 - Weighted Pair Group Method Using Arithmetic Means

6 - One Dimension-SDS-PAGE



شکل ۳ - فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه ای (UPGMA) ارقام از نقطه نظر باندهای HMW-GS

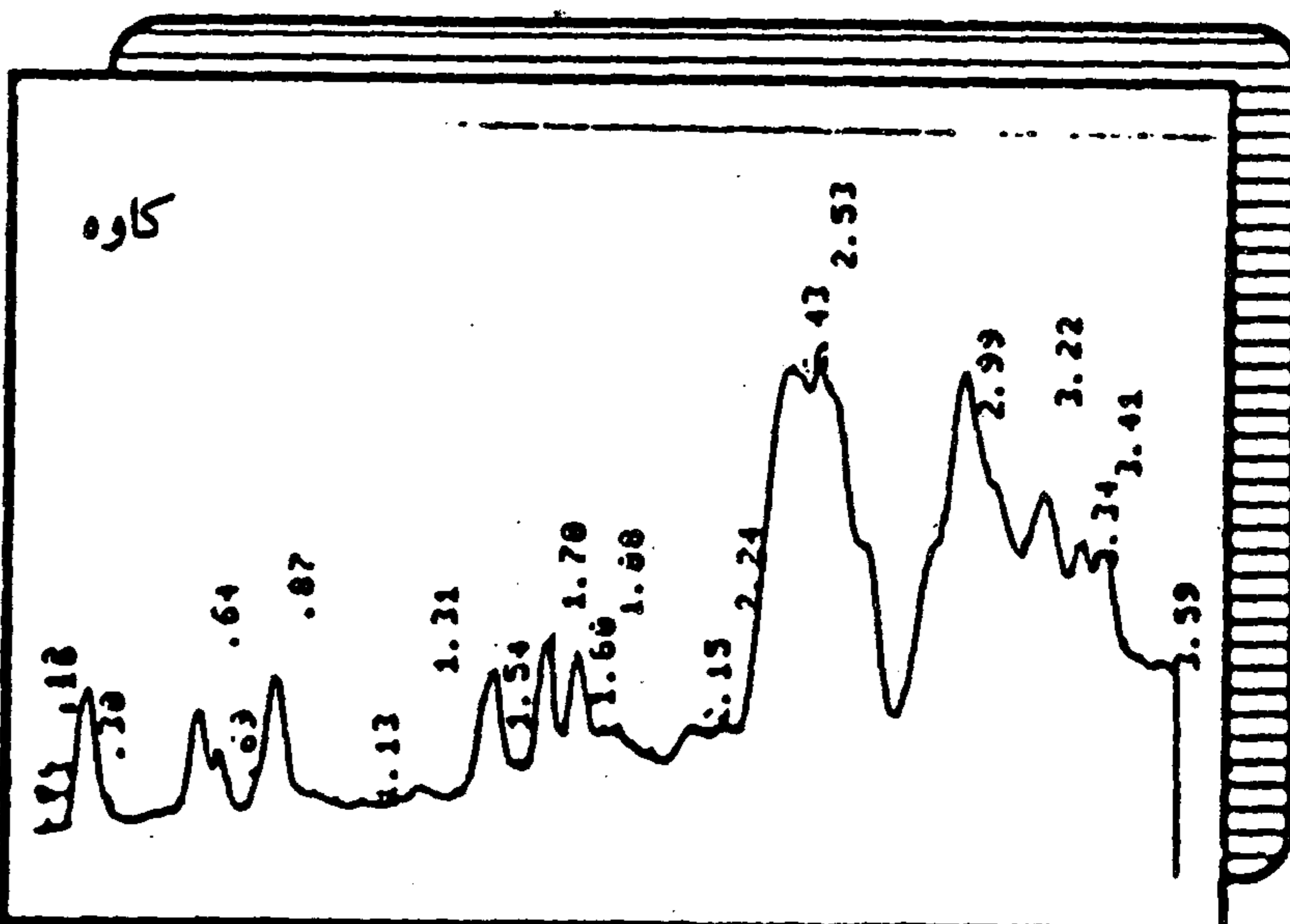
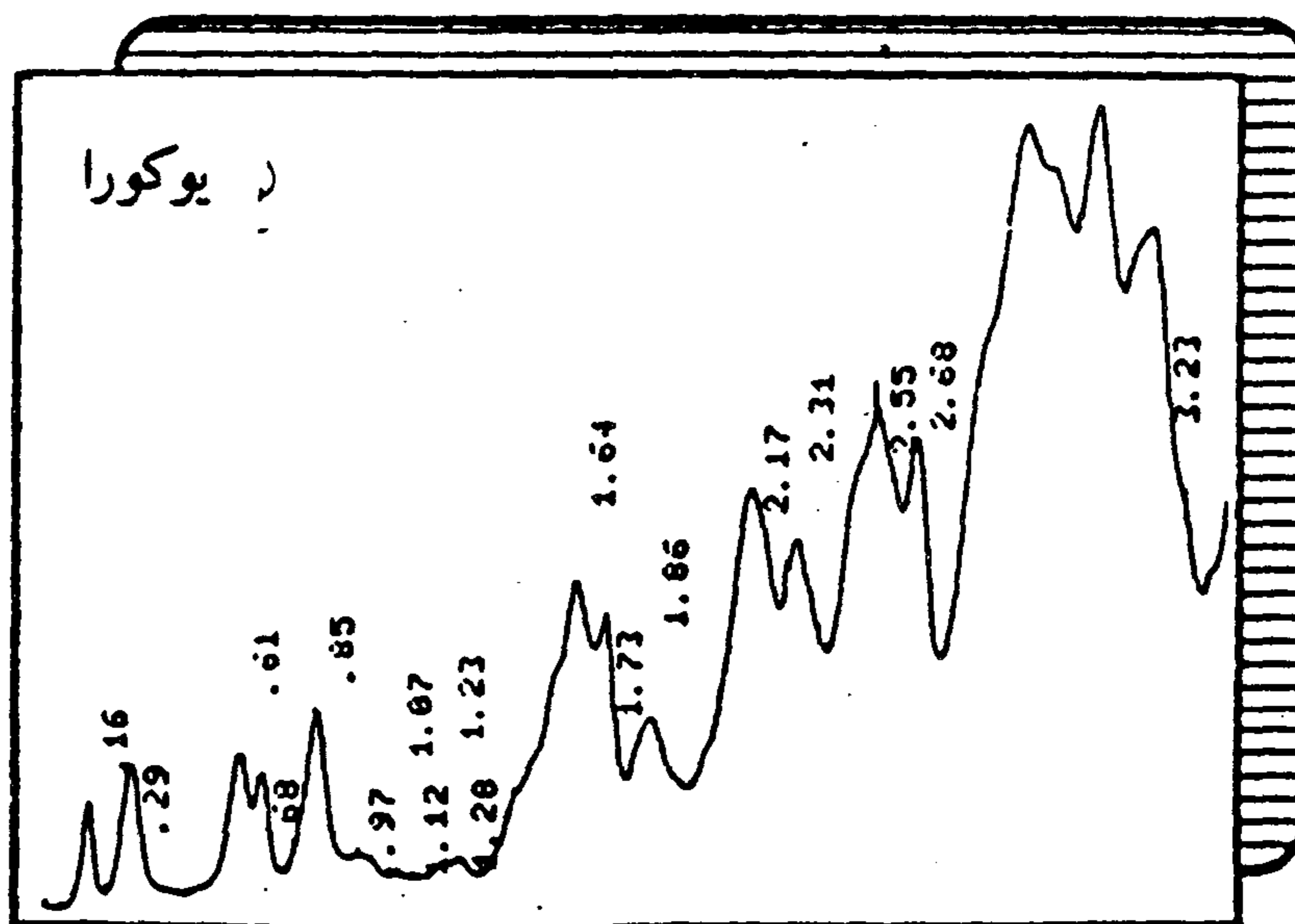
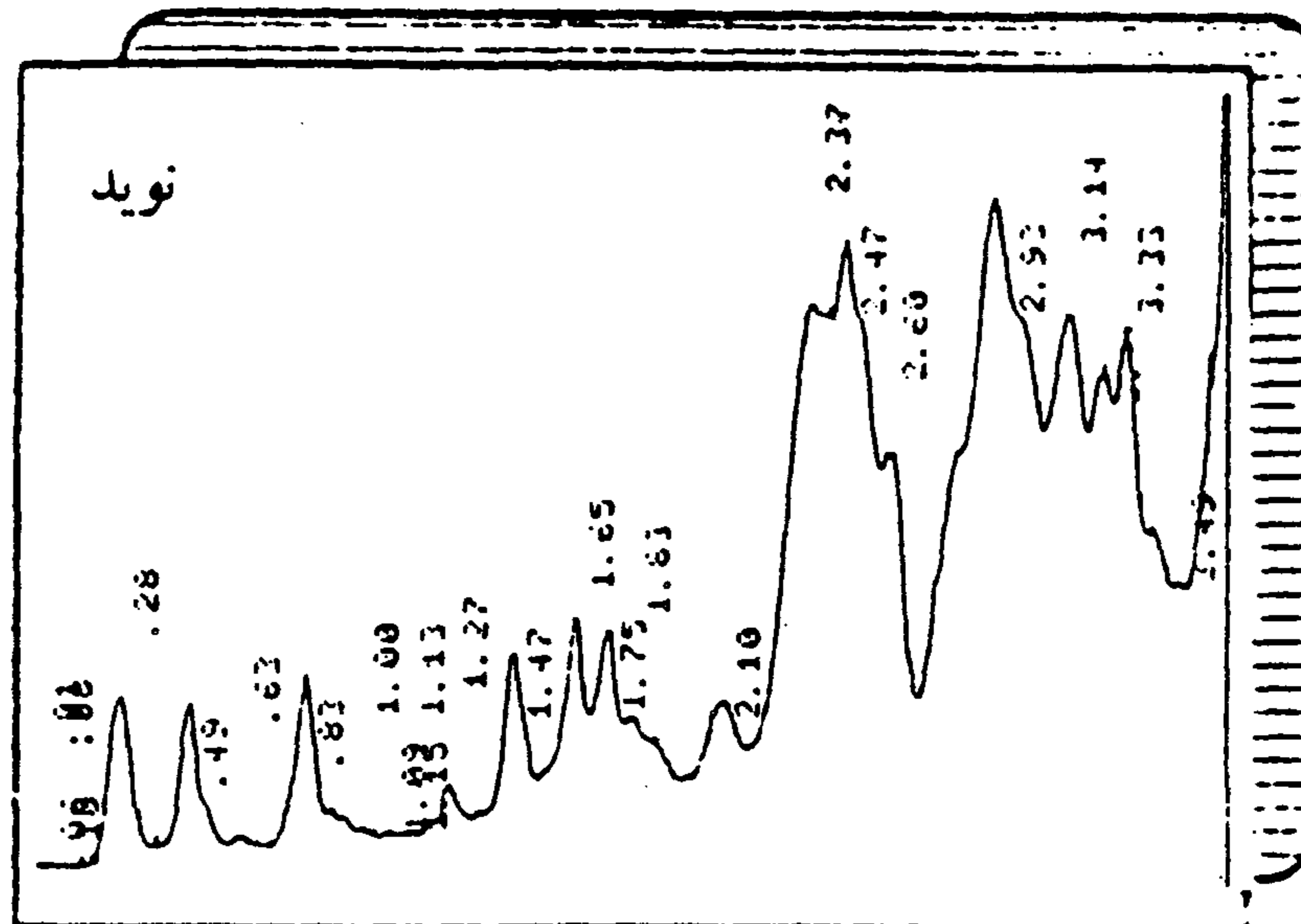
آزادی، سرداری، آذر، رشید، شاه پسند، کراس امید، شعله.

برای بررسی دقت و تطابق بین فنوگرام<sup>۱</sup> حاصله با ماتریس

تشابه (BS) از روی فنوگرام توسط برنامه کامپیوتری (COPH) ماتریس کوفنیک<sup>۲</sup> محاسبه شد. سپس ماتریس حاصل با ماتریس تشابه (BS) با استفاده از روش نیکوئی برآوردن<sup>۳</sup> و با کمک برنامه کامپیوتری (MXCOMP) مقایسه شد. ضریب همبستگی حاصل که همبستگی کوفنیک<sup>۴</sup> نامیده می شود در حدود  $R = 0.93$  بود که نشان دهنده مطابقت بسیار خوب بین ماتریس کوفنیک و ماتریس تشابه است.

ب: تجزیه خوشه ای بر اساس سطوح زیر منحنی

فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش UPGMA در شکل ۴ دیده می شود. دامنه فاصله اقلیدسی<sup>۵</sup>، میزان دامنه و تعداد کلاسترهای حاصل از برش محور فاصله در نقاط مختلف در جدول شماره ۴ دیده می شود. بهترین برش در ناحیه



شکل ۲ - نتایج لیزاسکانر دستیومتری ارقام

کلاستر دوم: یوکورا، گلستان، کاوه

کلاستر سوم: کرج-۳، خزر-۱، مغان-۲، بیات

کلاستر چهارم: آنزا، طبسی، مغان-۱، شاهی، ارون، عطایی، بیستون، امید، قرمز گندم بافقی، سفید گندم بافقی، ماهوتی یزدی،

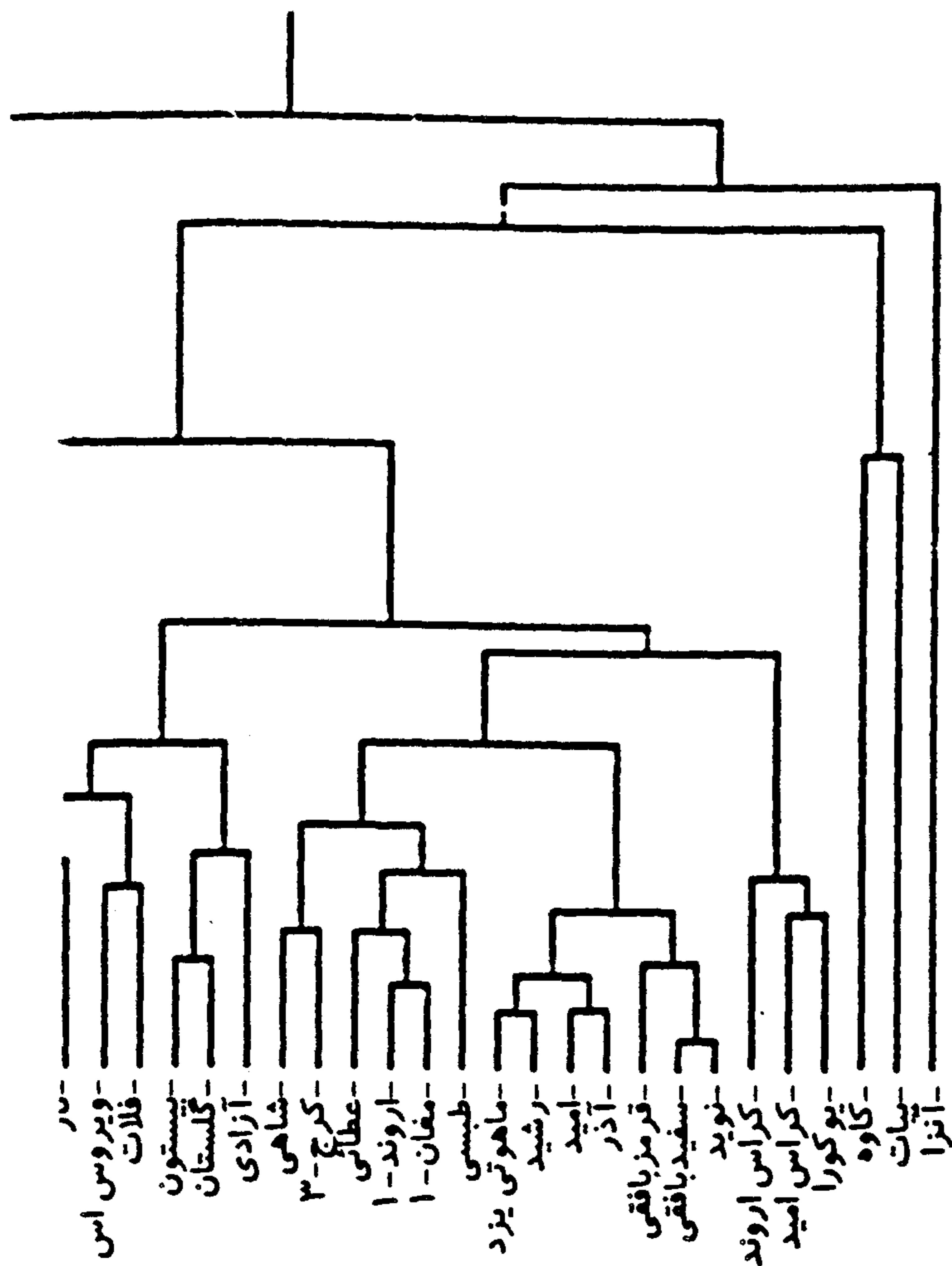
1 - Phenogram.

2 - Cophenic Matrice Value

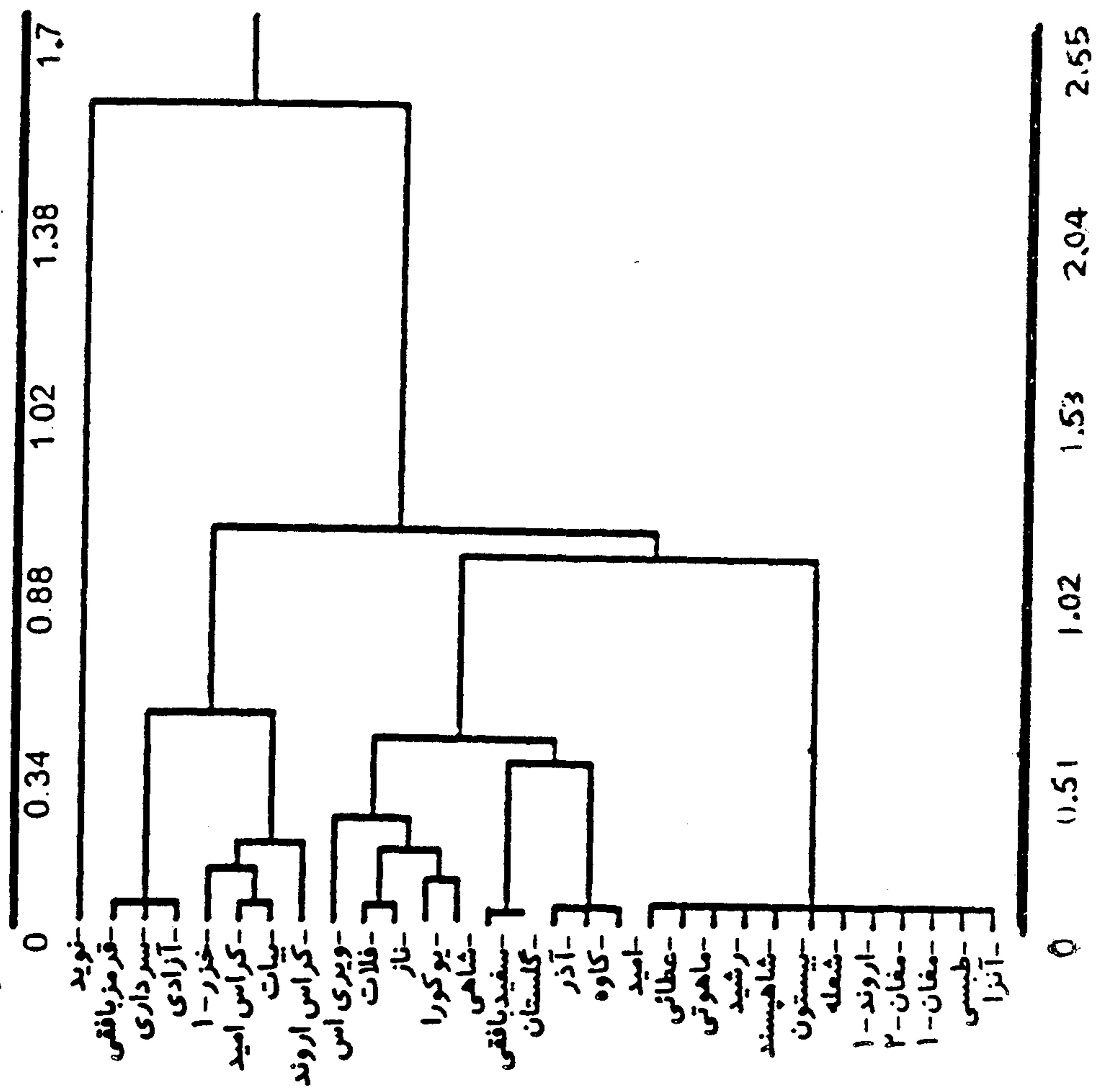
3 - Goodness of fit

4- Cophenetic Correlation

5 - Euclidian Distance Range



شکل ۴ - فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه ای (GMA) برای سطح زیر منحنی HMW-GS



شکل ۵ - فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه ای (UPGMA) ارقام از نقطه نظر مکانهای ژنی HMW-GS

پس از انجام محاسبات مشابه برای صفت اول ضریب همبستگی  $R = 0.93$  بود که نتیجه بسیار خوبی می باشد.

ج: تجزیه خوشه ای برای مکانهای ژنی کنترل کننده HMW-GS

فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش UPGMA در شکل ۵ دیده می شود. دامنه فاصله کای اسکورا<sup>۱</sup>، میزان دامنه و تعداد کلاسترهای حاصل از برش محور فاصله در نقاط مختلف در جدول شماره ۵ دیده می شود. بهترین برش در ناحیه  $0.64 < D < 1.02$  با میزان دامنه 0.38 می باشد که چهار کلاستر<sup>۲</sup> بدست داده است. در اینجا ضریب همبستگی کوفنیک 0.918 بود.

کلاستر اول: نوید

کلاستر دوم: شعله، آزادی، ماهوتی یزد

کلاستر سوم: یوکورا، کراس اروند، فلات، ناز، گلستان، امید،

$0.24 < ED < 0.52$  با دامنه حدود 0.28 واحد می باشد که ۱۰

کلاستر بدست داده است.

کلاستر اول: آنزا

کلاستر دوم: بیات

کلاستر سوم: کاوه

کلاستر چهارم: یوکورا، کراس امید، کراس اروند

کلاستر پنجم: نوید، آذر، طبسی، مغان - ۱، اروند، کرج - ۳،

غظایی، امید، رشید، ماهوتی یزد، سفید گندم بافقی، قرمز گندم بافقی، شاهی

کلاستر ششم: خزر - ۱، ناز، فلات، ویری اس، گلستان، بیستون، آزادی

کلاستر هفتم: مغان - ۲

کلاستر هشتم: شاه پسند

کلاستر نهم: سرداری

کلاستر دهم: شعله

بیات، کرج - ۳، شاه پسند

کلاستر چهارم: آنزا، طبسی، مغان - ۱، اروند، ویری اس، عطایی، رشید، خزر - ۱، کراس امید، بیستون، سرداری، شاهی، قرمز گندم بافقی، سفید گندم بافقی، کاوه، آذر، مغان - ۱

نتایج حاصل از فاصله اقلیدسی و ضریب همبستگی پیرسون نیز مشابه نتیجه حاصل از محاسبه فاصله از طریق کای اسکور بود. ضریب همبستگی کوفنیک در آنها بترتیب برابر  $R = 0.86$  و  $R = 0.85$  بود.

برخلاف طبقه بندی های قدیمی که بر اساس صفات فنوتیپی بوده و بشدت تحت تأثیر محیط قرار می گیرند، پروفیل های الکتروفورزی پتانسیل قابل توجهی برای طبقه بندی و شناسایی دارند (۲). انجام الکتروفورز SDS-PAGE و تجزیه خوشه ای از نقطه نظر ژنوتیپ HMW-GS و محاسبه اندیس تشابه (SI) بر اساس همخوانی باندها<sup>۱</sup> همانطور که از شکل ۳ برمی آید بخوبی قادر است ارقام مختلف را از همدیگر تشخیص دهد. بعنوان مثال در کلاستر دوم ارقام یوکورا، گلستان و کاوه را داریم که همه دارای باندهای ۵ + ۱۰ و ۱۸ + ۱۷ می باشند. در کلاستر اول تقریباً همه ارقام دارای باندهای ۱ و ۱۰ + ۵ می باشند. در کلاستر سوم اکثر ارقام باند های ۱۲ + ۲ می باشند. در کلاستر چهارم که بیشترین ارقام را در برمی گیرد اکثراً دارای باندهای ۱۲ + ۲، ۸ + ۷ یا ۹ + ۷ می باشند. با برشی که در ناحیه  $0.475 < BS < 0.525$  انجام شده با دامنه ای حدود ۰.۰۵ بهترین گروه بندی انجام شده است. با آزمون برازاندن ماتریس تشابه و ماتریس کوفنیک ضریب حاصله  $R = 0.93$  بود که نتیجه بسیار خوبی است و حاکی آن است که فنوگرام حاصل منعکس کننده واقعی ماتریس تشابه می باشند.

تجزیه خوشه ای ارقام از نقطه نظر سطح زیر منحنی اجزای مختلف پروفیل الکتروفورزی نیز بخوبی قادر است ارقام را از همدیگر تفکیک نماید و ارقام مشابه را در یک گروه قرار دهد. نتایج حاصل از کلاستر بروش UPGMA در شکل ۴ مشاهده می گردد، بهترین برش در دامنه  $0.240 < ED < 0.520$  با میزان ۰.۲۸ واخذ است که ۱۰ کلاستر بدست داده است. در کلاسترهای اول تا دوم و هفتم تا دهم ارقامی قرار دادند که دارای سطوح زیر منحنی تقریباً مشابه و اندک می باشند این ارقام با توجه به مطالعات قبل

جدول ۳ - گروه بندی بر اساس همخوانی باندهای HMW-glutenin

تعداد کلاستر	دامنه تشابه	مقدار دامنه
30	S=1.00	
16	0.80 < S < 1.00	0.20
10	0.66 < S < 0.71	0.05
7	0.55 < S < 0.61	0.05
4	0.48 < S < 0.53	0.05
2	0.18 < S < 0.46	0.28
1	0.00 < S < 0.18	0.18

جدول ۴ - گروه بندی بر اساس سطح زیر منحنی HMW-glutenin

تعداد کلاستر	دامنه فاصله	مقدار دامنه
30	ED < 0.00	-
19	0.00 < ED < 0.24	0.24
10	0.24 < ED < 0.52	0.28
7	0.52 < ED < 0.72	0.20
4	0.72 < ED < 1.00	0.28
2	1.00 < ED < 1.40	0.40
1	1.40 < ED < 1.60	0.20

جدول ۵ - گروه بندی بر اساس کدگذاری مکانهای ژنی HMW-GS

تعداد کلاستر	دامنه فاصله کای اسکور	مقدار دامنه
30	CD = 0.00	-
12	0.00 < CD < 0.12	0.12
10	0.12 < CD < 0.19	0.07
8	0.19 < CD < 0.30	0.11
6	0.45 < CD < 0.54	0.09
4	0.64 < CD < 1.02	0.38
1	1.02 < CD	-

فلات، ناز و گلستان همگی ارقامی هستند که از نقطه نظر زیر واحدهای HMW-GS تقریباً شبیه به هم هستند ولی قرار گرفتن ارقامی مثل: امید، شاهپسند و کرج - ۳ در این کلاستر علی‌رغم وجود ضریب همبستگی کوفنیک بالای  $R = 0.92$  نشانگر این است که در روش کدگذاری مکانهای ژنی باید احتیاط نمود و باید تحقیق نمود که چه روش کدگذاری دیگری می‌تواند نتیجه‌ای بهتر از این بدهد. در کل می‌توان گفت علاوه بر صفات فنوتیپی و زراعی (۲۳، ۲۴) میتوان از روشهای بیوشیمیایی نظیر الکتروفورز پروتئینها (۲، ۲۶)، آنزیمها (۹) و نوکلئیک اسید (۲۱) واکنش به مواد شیمیایی (۳۲) برای شناسایی و طبقه بندی ارقام استفاده نمود. همچنین روشهای تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه اصلی و دیگر روشهای آماری چند متغیره برای طبقه بندی ارقام مناسب می‌باشند. ترکیب روشهای مختلف با هم نتیجه بهتری خواهد داشت. برآورد ماتریس فاصله از طریق فاصله اقلیدسی نتایج مناسب‌تری را ارائه می‌دهد.

(مسعودی نژاد و یزدی صمدی ۱۳۷۲). همانهایی هستند که اکثراً چهار باندی بوده و میزان سطوح زیر منحنی HMW-GS و پروتئین آنها در مقایسه با بقیه کمتر می‌باشد و دارای ارزش نانوائی اندکی می‌باشند (مسعودی نژاد و یزدی صمدی ۱۳۷۲). در کلاستر چهارم و ششم ارقامی مشاهده می‌گردند که اکثراً ۵ باندی بوده و دارای سطح زیر منحنی بیشتری برای HMW-GS نسبت به بقیه می‌باشند.

تجزیه خوشه‌ای برای مکانهای ژنی کنترل کننده HMW-GS نیز با استفاده از کدگذاری مکانهای ژنی (۲۳) و با استفاده از سه فرمول مختلف برای محاسبه فاصله<sup>۱</sup> انجام شد و سه روش نتایج تقریباً مشابهی بدست دادند. بهترین نتیجه با روش محاسبه فاصله از طریق کای اسکور بدست می‌آید که ضریب همبستگی کوفنیک معادل  $R = 0.92$  بود. فنوگرام حاصل در شکل ۵ - دیده می‌شود. بهترین برش در دامنه  $0.64 < D < 1.02$  است که فنوگرام را به چهار کلاستر تقسیم می‌نماید. در کلاستر سوم اگر چه ارقامی مثل یوکورا، کراس ارون،

## REFERENCES

## مراجع مورد استفاده

- ۱- مسعودی نژاد، ع. ب. یزدی صمدی، ۱۳۷۲. شناسایی، طبقه بندی و بررسی ارزش نانوائی گندمهای ایران با استفاده از الکتروفورز پروتئینهای ذخیره ای اندوسپرم (گلوتئین). مقاله ارائه شده در اولین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، ۱۸-۱۵ شهریور، کرج، ایران
- ۲- مسعودی نژاد، علی، یزدی صمدی، بهمین، ۱۳۷۲. بررسی کمی پروتئینهای ذخیره ای گندم (گلوتئین) با استفاده از الکتروفورز (SDS-PAGE) و لیزراسکانر دنسیتومتری (LSD). مقاله ارائه شده در اولین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، ۱۸-۱۵ شهریور، کرج، ایران.
- 1- H. C. Romesburg ., 1990 , Cluster Analysis for researchers , Robert E. Krieger publishing company , INC. Krieger Drive , Malabar , Florida A 32950 , USA
- 2- Menelaos Costas , 1990 , Numerical analysis of sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoretic protein patterns for The classification , identification and typing of medically important Bacteria . Electrophoresis , 11: 382 - 391
- 3- Sneath , P. H. A. and R. R. Sokal , 1973 ., Numerical taxonomy : The principle and practice of numerical classification , Freeman , San Francisco PP. 1 - 15
- 4- Norris , j. R., In: Goodfellow , M. and Board , R. j. ( Eds) . Microbiological classification and identification . SAB symposium series no. 8. Academic Press, London , PP. 1 - 10
- 5- Cook . R. j. Electrophoresis in plant testing and breeding In: Advances in Electrophoresis vol. 2 (Charambatch . A., M. j. Dunn., B. j. Radola ., Eds ) VCH Verlagsgesellschaft mbH , D



- 6940 Weinheim ( F. R. G ) , 1988 , PP. 171 - 261
- 6- Wrigley C. W. 1987 , Complementing traditional methods of identifying Cereal varieties with novel procedures . Seed , Sci . Tech, 15 : 679 - 688
- 7- Devweghe . L. V. 1991 , Comparative study of electrophoretic methods for cultivar identification of wheat and triticale , Seed .Sci . Tech. 19: 41 - 50
- 8- Masoudinejad . A. and B. Yazdi - Samadi . 1993 , Identification and classification of Iranian wheats by SDS - PAG Electrophoresis of seed storage proteins . papper presented In : First Iranian Congress of Crop Production and breeding 6 - 9 September , 1993 , Karaj , Iran
- 9- Andersen . H. j. 1982 . Isozyme character of 47 barley cultivars and their application in cultivar identification , Seed Sci . of Technol , 10: 405 413
- 10- Nevo .E., A. Beiles and D. Kaplan . 1988 . Genetic diversity and environmental association of world emmer wheat in Turkey. Heredity 61 : 31 - 45
- 11- Gept , P., 1989 . Genetic diversity of seed stroage proteins in plant . In : Plant Population Genetics , Breeding and Genetic Resources ( A. H. D. Brown ., M. T. clegg ., A. L. kabaler and B. S. weir ( EDS ) ) . PP. 64 - 82 . Sinauer Association Inc ., Sunderland , Massachusetts .
- 12- Jana , S. and A. c. Zeven , 1991 . The Interpration of Nei and Shamon - Weaver within population variation indices . Euphytica 51 : 235 - 240
- 13- Asfaw . Z., 1989 , Variation in hordein polypeptide pattern within Ethiopian barley ( , Hordeum Vulgare L . ) ( poaceao ) . Hereditas 110 : 185 - 191
- 14- Wrigley , C. W., j. C. Autran ., W. Bushuk , 1982 , Identification of Cereal varieties by gel electrophoresis of The grain proteins . in : Advance in Cereal science and technology Vol 5 ( Y Pomeranz ( Eds) . American Assosiation of Cereal Chemists . St , paul , Minnesota , 1982 PP , 211 - 259
- 15- Vaughan , j. G. 1983 , The use of seed proteins in Taxonomy and phylogeny , in : seed proteins , J. Daussant ., J. Mosse., j. vaugan ( Eds ) 1983 ., Academic Press , London , PP . 135 - 152
- 16- Hamman , H. K. 1972 . Utilization of multivariate statistics for discriminating Among tobacco varieties , Tech . Bull . ziz . North caroling agric exp . st . ( Raleigh , Nc )
- 17- Edye . L. A., 1976 ., Analysis of Agronomic Data from stylosanthes Introdactions . P. 170 - 180 in : pattern Analysis in Agricultural science ( Williams . W . T. Eds ) Elsevier Sci . Publ . co.,Amesterdam The Netherlands
- 18- Smith , j. S. C. and O. S. smith . 1987 . Association among inbred lines of Maize using Electrophoretic , chromatographic and pedigree Data : 1 . Multivariate and cluster analysis of data from "landcaster sure crop" Drived Lines . Theor Appl . Genet . 73 : 654 - 664
- 19- Smith , j. S. C. and O. S. Smith , 1988 , Association among inbred lines of Maize using electrophoretic

- , chromatographic and pedigree Data : 2 . Multivariate and cluster analysis of data from "Iowa stiff stalk" Drived lines ,Theor.Appl.Genet.76:39 - 44
- 20- Masoudi-Nejad . A. and B. Yazdi - Samadi . 1993 . Quantitative studies of storage proteins (Glutenin) in Iranian wheats by SDS - PAGE and Laser - Densitometry . Papper presented in : First Iranian Congress on Plant Production and Breeding . 6 - 9 September 1993 , Karaj , Iran
- 21- Vainstein . A., j. Hillel ., U. Lavi of G. Tzuri , 1991 . Assesment of genetic relatedness in carnation by DNA fingerprint analysis , Euphytica 56 : 225- 229
- 22- Sokal. R. R., and P. H. a. Sneath , 1963 , Principle of numerical taxonomy , Freeman , Sanfrancisco and London
- 23- Molina - cano . j. L. 1978 , A further contribution to The classification of bareley cultivars : Use of numerical taxonomy of biochemical methods , Seed Sci Technol 6 : 593 - 615
- 24- Brown . j. S., 1991 , Principle component and cluster analysis of cotton cultivar variability across The U. S. cotton Belt . Crop Sci , 31 : 915 - 922
- 25- Clusoleo. M., j. P. V. van Geyt , and M . jacobs , 1992 , Enzyme and stroge Protein electrophoresis in varietal identification of sugar beet . Theor. Appl. Genet 85 : 379 - 385
- 26- Van hintun , th. j. L, and A. Elings, 1991 . Assesment of glutenin and phenotypic diversity of syrian durum wheat landraces in relation to their geographical origin. Euphytica . 55 : 209 - 215