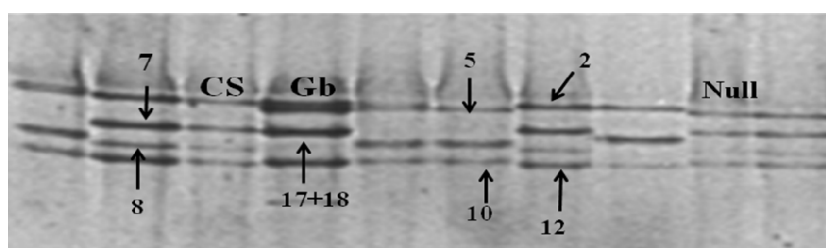


نتایج و بحث

در کیفیت نانوائی در ۲۰ ژنوتیپ گندم نان به‌کار گرفته شدند (جدول ۲).

هر یک از نشانگرهای اختصاصی STS از طریق مطابقت با آل‌های پروتئینی در سیستم SDS-PAGE به تأیید رسید (شکل ۱).

در این پژوهش دو جفت آغازگر اختصاصی شناساگر زیرواحدهای (Dx5^۱ یا Dx2^۱ و Dx3^۱) و (Dy10^۱ یا Dy12^۱)، در مکان ژنی 'OX*' و سه جفت آغازگر اختصاصی شناساگر زیرواحدهای Bx7^۱، By8^۱، By9^۱ در مکان ژنی 'OX*' با رتبه کیفی بالا، متوسط و پایین مؤثر



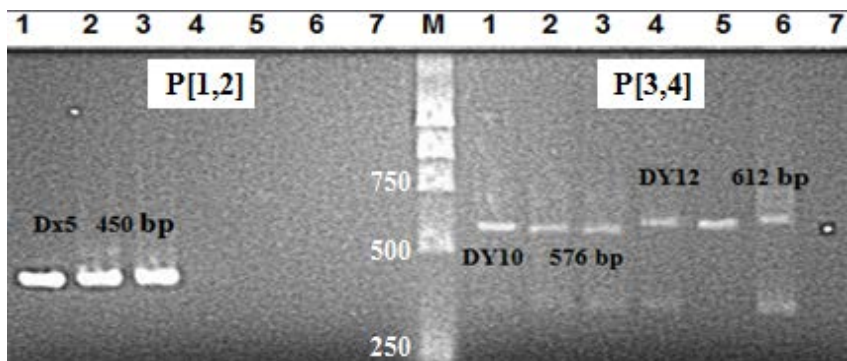
شکل ۱. الگوی الکتروفورزی برخی از ارقام نان گندم مطالعه‌شده برای زیرواحدهای گلوتنن با وزن مولکولی بالا

جدول ۲. ارقام گندم نان بررسی‌شده، زیرواحدهای گلوتنن، امتیاز کیفی پین و ارتفاع آزمون رسوب SDS

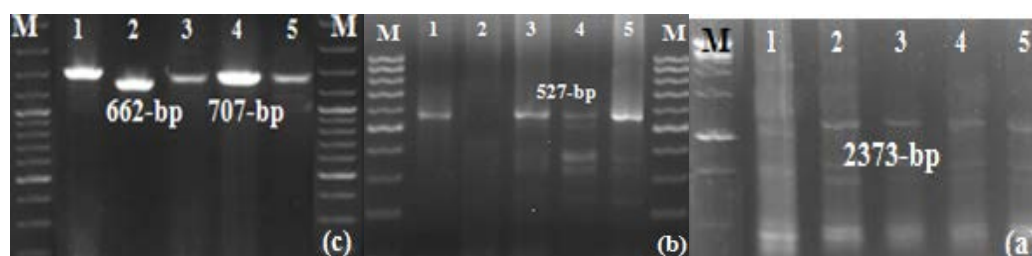
شماره	رقم	زیرواحدهای گلوتنن با وزن مولکولی بالا HMW-GS					رتبه کیفی	آزمون ارتفاع رسوب SDS (cm)
		Dy ^۱	Dx ^۱	By ^۱	Bx ^۱	Ax ^۱		
۱	چینی بهاره	نول	۷	۸	۲	۱۲	۶	۵۵
۲	گابو	۲*	۱۷	۱۸	۲	۱۲	۸	۶۵
۳	کرج ۲	نول	۷	۸	۵	۱۰	۸	۵۳
۴	کرج ۳	۲*	۱۳	۱۹	۲	۱۲	-	۷۰
۵	فلات	۱	۷	۹	۵	۱۰	۱۰	۵۰
۶	نوید	۲*	۱۷	۱۸	۵	۱۰	۱۰	۴۶
۷	قدس	نول	۱۷	۱۸	۵	۱۰	۸	۴۹
۸	استار	۲*	۷	۸	۲	۱۲	۸	۵۷
۹	گلستان	نول	۱۷	۱۸	۵	۱۰	۸	۶۵
۱۰	بزوستایا	۲*	۷	۹	۵	۱۰	۱۰	۶۰
۱۱	اینیا	۱	۷	۸	۵	۱۰	۱۰	۶۳
۱۲	شاه‌پسند	نول	۷	۸	۳	۱۲	۶	۶۵
۱۳	روشن	۲*	۷	۸	۲	۱۲	۶	۵۲
۱۴	اترک	۲*	۷	۸	۲	۱۲	۸	۶۵
۱۵	چناب	۲*	۷	۸	۲	۱۲	۸	۶۸
۱۶	تجن	۱	۷	۱۱	۲	۱۲	-	۶۵
۱۷	اروند	نول	۷	۸	۲	۱۲	۶	۴۱
۱۸	نیک‌نژاد	۲*	۷	۹	۵	۱۰	۹	۶۴
۱۹	طیسی	نول	۷	۸	۲	۱۲	۶	۶۵
۲۰	الوند	۱	۷	۸	۲	۱۲	۸	۴۸

متوسط و مؤثر در افزایش کیفیت نانوائی در ارقام گندم نان به کار گرفته شدند که شکل ۳ به ترتیب الکتروفورز اختصاصی محصولات PCR را در مکان ژنی Glu-B1 نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۳ ژنوتیپ چناب، اروند، طبسی و الوند آلل ۷+۸ دارند و رقم فلات آلل ۷+۹ را نشان می‌دهد. نتایج و ارتباط بین زیرواحدهای گلوٹین و نشانگرهای DNA آن‌ها برای ارقام گندم استفاده شده در ایران در این مطالعه با نتایج مطالعات مقبول احمد بر روی ارقام کشور نیوزیلند، دوویدئو و همکارانش و اندرسون و همکاران روی ژنوتیپ‌های اروپا در تعیین نشانگرهای DNA مرتبط با زیرواحدهای پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم مطابقت و شباهت دارد (۱، ۵ و ۲۶) در مطالعه‌ای مشابه که در این زمینه انجام گرفته است تنوع آلی ۱۰۶ ژنوتیپ گندم نان در سطح پروتئین بررسی شده قرار گرفت و ۲۲ آلل برای بلوک ژنی شناسایی شد (۱۴). همچنین در پژوهشی دیگر که بر روی ارقام تجاری گندم نان ایران انجام شد تعدادی از آلل‌های مکان ژنی Glu-1 در سطح پروتئین و DNA شناسایی شد (۹) و (۱۰). در این مطالعه با یافتن آلل‌هایی که همبستگی بالایی با صفات مرتبط با کیفیت محصول نهایی گندم دارند می‌توان ژنوتیپ‌های با کیفیت بالا را در مراحل اولیه رشد گیاه انتخاب کرد.

جفت آغازگر P_1 و P_2 برای شناسایی زیرواحد $Dx5^1$ و $Dx2^1$ یا $Dx3^1$ به کار رفتند. ارقام دارای زیرواحد $Dx5^1$ یک فرآورده اختصاصی ۴۵۰ جفت‌بازی را تولید می‌کنند و ارقام فاقد این زیرواحد و دارای زیرواحدهای $Dx2^1$ یا $Dx3^1$ هیچ فرآورده‌ای تولید نمی‌کنند (شکل ۲). با استفاده از جفت آغازگرهای P_3 و P_4 ارقام دارای $Dy10^1$ فرآورده ۵۷۶ جفت‌بازی را تولید کردند ولی ارقام فاقد آن و دارای زیرواحد $Dy12^1$ یک باند ۶۱۲ جفت‌بازی را تولید کردند (شکل ۲). ملاحظه می‌شود سه رقم اول که زیرواحدهای پروتئینی $Dx5+1Dy10^1$ دارند، فرآورده‌های ۴۵۰ و ۵۷۶ جفت‌بازی به ترتیب اختصاص با زیرواحد $Dx5^1$ و $Dy10^1$ دارند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای سه رقم بعدی که فاقد $Dx5^1$ و دارای آلل‌های $Dx2^1$ یا $Dx3^1$ هستند هیچ فرآورده‌ای با آغازگرهای P_1 و P_2 تولید نکرد، اما به دلیل حضور آلل $Dy12^1$ در این ارقام با آغازگرهای P_3 و P_4 نشانگر اختصاصی آن با ۶۱۲ جفت‌بازی تکثیر شد. بنابراین، می‌توان از هر یک از این‌ها به منزله نشانگرهای مناسب برای ردیابی ارقام دارای آلل‌های غنی یا ضعیف از نظر ارزش نانوائی استفاده کرد. در این پژوهش آغازگرهای اختصاصی $(P_5 \text{ و } P_6)$ ، $(P_7 \text{ و } P_8)$ ، $(P_9 \text{ و } P_{10})$ شناساگر زیرواحدهای $Bx7$ ، $By8$ و $By9$ در مکان ژنی Glu-B1 با رتبه کیفی



شکل ۲. الکتروفورز اختصاصی محصولات PCR مربوط به آغازگرهای $[P_1, P_2]$ و $[P_3, P_4]$ برای زیرواحدهای $Dx5^1$ ، $Dy10^1$ و $Dy12^1$ در مکان ژنی Glu-D1 را در شکل نشان می‌دهد. ارقام به کاررفته عبارت‌اند از: (۱) نوید، (۲) قدس، (۳) فلات، (۴) کرج، (۵) چینی بهاره، (۶) گابو، (۷) شاه‌پسند، M: نشانگر اندازه DNA (۱ kb)



شکل ۳. الکتروفورز اختصاصی محصولات PCR مربوط به آغازگرهای $[P_6, P_5]$ و $[P_8, P_7]$ و $[P_{10}, P_9]$ برای زیرواحدهای Bx7، By8 و By9 در مکان ژنی Glu-B1 با استفاده از آغازگر اختصاصی به ترتیب در شکل (a)، (b) و (c) نشان می‌دهد. ارقام به کاررفته عبارت‌اند از: (۱) چناب، (۲) فلات، (۳) ارونند، (۴) طیبسی، (۵) الوند، M: نشانگر اندازه DNA در شکل (a)، (b) و (c) به ترتیب عبارتند از: ۱ kb، ۱۰۰ bp و ۵۰ bp را نشان می‌دهد.

مطابقت دارد. نتایج حاضر در جدول ۲ نشان‌دهنده این است که بالا یا پایین بودن ارتفاع رسوب SDS نمی‌تواند دلیل قطعی بر این نظر باشد که این نشان می‌دهد کیفیت نانوائی علاوه بر زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی بالا، تحت تأثیر زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی پایین، نسبت گلوٲتین به گلیادین، توزیع وزن مولکولی و محتوای پروٲئین کل است (۸). گزینش به کمک نشانگر، پیوستگی بسیار بالایی در بین هر یک از جفت زیرواحدهای ۱۰+۵ و ۱۲+۲ و فرآورده‌های PCR آن‌ها نشان داده است و در این پژوهش این موضوع در تکرارهای مجزا تأیید شد، بنابراین، تعیین قوت و ضعف ارقام گندم از نظر ارزش نانوائی در مکان‌های ژنی Glu-D1 با استفاده از آغازگرهای اختصاصی آن‌ها در کوتاه‌ترین زمان فراهم می‌شود. حضور فرآورده اختصاصی مکان ژنی Bx7۱ در محصول PCR امکان شناسایی ارقام با پتانسیل متوسط تا خوب را در این جایگاه فراهم می‌کند. عمده مطالعات بر روی زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی بالا و پایین و کیفیت نان در تشخیص ترکیبات آلی برای رتبه‌بندی کیفی ارقام گندم با استفاده از الکتروفورز در سیستم SDS-PAGE انجام گرفته است که دشواری‌های متعددی دارد و در مجموع مستلزم صرف وقت و کار زیاد و تفسیر آن‌ها دشوار است و استفاده از نشانگرهای DNA

براساس مطالعات انجام‌شده در این پژوهش در سطح DNA و پروٲئین بر روی ارقام نام‌برده می‌توان براساس جدول امتیازدهی پین (۱۸)، رتبه‌بندی کیفی ارقام را براساس بهترین و بدترین رقم از نظر کیفیت نانوائی تعیین کرد (جدول ۲). براساس جدول امتیازدهی پین ارقام دارای امتیاز بین هشت تا ۱۰ کیفیت بالا، ارقام دارای امتیاز پنج تا هفت دارای کیفیت متوسط و ارقام دارای امتیاز سه تا چهار دارای کیفیت پایین نانوائی هستند. نتایج براساس جدول امتیازبندی نشان داد که ارقام مطالعه شده رتبه کیفی بالا و متوسط دارند. آزمون رسوب SDS^۱ نیز به منزله یکی دیگر از روش‌های تعیین کیفیت پروٲئین استفاده شد. ارتفاع رسوب SDS حاصل، معرف کیفیت گلوٲن است و عدد رسوب SDS هرچه بیشتر باشد کیفیت گلوٲن مطلوب است و می‌توان بدون توجه به عملکرد دانه، در پیش‌بینی بهبود کیفیت نانوائی از آن‌ها استفاده کرد (۲۰ و ۱۶). به‌طورکلی، باندهای *۲ از مکان ژنی Glu-A1، ۱۰+۵ از مکان ژنی Glu-D1 و ۱۷+۱۸ از مکان ژنی Glu-B1 روی ارتفاع رسوب بیشترین تأثیر را دارند و وجود این زیرواحد در گندم سبب افزایش ارتفاع رسوب SDS می‌شود و این نتیجه با بخشی از نتایج صادق زاده و همکاران (۲۲)

1. Sodium Dodecyl Sulfate

3. Anderson DD, Greene FC, Yip RE, Halford NG, Shewry PR and Alpica-Romero JM (1989) Nucleotide sequences of the two high-molecular-weight glutenin genes from the D-genome of hexaploid bread wheat, *Triticum aestivum* L. cv Cheyenne. *Nucleic Acids Research*. 17: 461-462 .
4. De-Bustos A, Rubio P, Soler C, García P and Jouve N (2001) Marker assisted selection to improve HMW glutenins in wheat. *Euphytica*. 119: 69-73 .
5. Dovidio R, Porceddu E and Lafandra D (1994) PCR analysis of genes encoding allelic variants of high-molecular-weight glutenin subunits at the Glu-D1 locus. *Theoretical and Applied Genetics*. 88: 175-180 .
6. Gianibelli MC, Larroque OR, MacRitchie F and Wrigley CW (2001) Biochemical, genetic and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. *Cereal Chemistry*. 78: 635-646 .
7. Guo PG, Bai GH and Shaner GE (2003) AFLP and STS tagging of a major QTL for Fusarium head blight resistance in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 106: 1011-1017.
8. Gupta RB, Batey IL and Ritchie FM (1992) Relationships between protein composition and functional properties of wheat flour. *Cereal Chemistry*. 69: 125-131 .
9. Izadi Darbandi A and Yazdi Samadi B (2012) Marker-assisted selection of high molecular weight glutenin alleles related to bread-making quality in Iranian common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetics*. 91: 193-198 .

به دلیل محدودیت‌های ذکر شده ترجیح داده می‌شوند. نتایج این پژوهش می‌تواند ضمن رفع خطاهای ممکن در نامگذاری الگوی بانندی پروتئینی سیستم SDS-PAGE، موجب تشخیص بسیار سریع پتانسیل کیفی ارقام از نظر ارزش نانوائی برای جایگاه‌های Glu-B1 و Glu-D1 در برنامه‌های اصلاحی می‌شود. نشانگرهای DNA تأیید شده برای ارزش نانوائی را می‌توان در مرحله گیاهچه‌ای به دست آورد و دیگر نیازی نیست گیاهان بذرگیری و ترکیبات پروتئینی آن‌ها مشخص شوند و این گزینش سریع موجب پرهیز از اتلاف وقت و تسریع در پژوهش‌های هم‌زمان کمی و کیفی ارقام در نسل‌های حاصل از تلاقی‌ها می‌شود. بنابراین، از نشانگرهای اختصاصی به روش STS-PCR می‌توان جهت شناخت ژنوتیپ‌هایی با هدف خاص و ارزیابی کیفی ارقام گندم استفاده کرد. گزینش ارقام ضعیف و قوی از نظر ارزش نانوائی در مکان ژنی Glu-D1 و Glu-B1 به راحتی ممکن می‌شود و شناخت ارقام دارای جزء Bx71 با کیفیت متوسط تا خوب نیز به سهولت امکان‌پذیر است. همچنین با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد که آزمون ارتفاع رسوب SDS شاهد مناسبی برای تأیید درجه کیفیت ارقام، با توجه به نتایج حاصل از PCR و SDS-PAGE است.

منابع

1. Ahmad M (2000) Molecular marker-assisted selection of HMW glutenin alleles related to wheat bread quality by PCR-generated DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 101: 892-896 .
2. Anderson DD and Greene FC (1989) The characterization and comparative analysis of high-molecular-weight glutenin genes from genomes A and B of a hexaploid bread-wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 77: 689-700 .

10. Izadi-Darbandi A, Yazdi-Samadi B, Shahnejat-Boushehri AA and Mohammadi M (2010) Allelic variations in *Glu-1* and *Glu-3* loci of historical and modern Iranian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*. 89:193-199 .
11. Johal J, Gianibelli MC, Rahman S, Morell MK and Gale KR (2004) Characterization of low-molecular-weight glutenin genes in *Aegilops tauschii*. *Theoretical and Applied Genetics*. 109:1028-1040 .
12. Kuchel H, Fox R , Reinheimer J, Mosionek L, Willey N, Bariana H and Jefferies S (2007) The successful application of a marker-assisted wheat breeding strategy. *Molecular Breeding* (In Press) .
13. Lei ZS, Gale KR, He ZH, Gianibelli C, Larroque O, Xia XC, Butow BJ and Ma W (2006) Y-type gene specific markers for enhanced discrimination of high-molecular weight glutenin alleles at the *Glu-B1* locus in hexaploid wheat. *Cereal Science*. 43: 94-101 .
14. Liu L, He ZH, Ma WJ, Liu JJ, Xia XC and Pena RJ (2009) Allelic variation at the *Glu-D3* locus in Chinese bread wheat and effects on dough properties, pan bread and noodle qualities. *Cereal Research Communications*. 37: 57-64 .
15. Murray M and Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 8: 4321-4325 .
16. Najafian G, Bahraie S, Baghaie N, Mortezaagholi M and Babaie-Goli E (2008) Bread making quality attributes of Iranian commercial cultivars of wheat and their HMW glutenin subunits composition. *Proceedings the 11th International Wheat Genetics Symposium*. 24-29 Aug., Brisbane, Australia. 241p.
17. Park WJ, Shelton DR, Peterson CJ, Martin TJ, Kachman SD and Wehling RL (1997) Variation in polyphenol oxidase activity and quality characteristics among hard white wheat and hard red winter wheat samples. *Cereal Chemistry*. 74: 7-11 .
18. Payne PI, Nig htengale MA, Krattiger AF and Holt LM (1987) The relationship between HMW glutenin subunit composition and breadmaking quality of British grown wheat varieties. *Science Food Agriculture*. 40: 51-65 .
19. Prins R, Groenewald JZ, Marais GF, Sn ap JW and Koebner RMD (2001) AFLP and STS tagging of *Lr19*, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 103: 618-624.
20. Quick JS and Donnelly BI (1980) A rapid test for estimation of durum wheat gluten quality. *Crop Science*. 20: 816-818 .
21. Radovanovic N and Cloutier S (2003) Gene-assisted selection for high molecular weight glutenin subunits in wheat doubled haploid breeding programs. *Molecular Breeding*. 12: 51-59 .
22. Sadeghzadeh B, Ghannadha M R, Ahmadian Tehrani P, Abdmishani S and Seied Tabatabaei BE (2002) Determination of relationship between HMW-GS and wheat baking quality through Electrophoresis. *Iranian Journal of Agriculture Science*. 33: 535-542. (In Farsi (
23. Semgan K, Bjornstad A and Ndji onjop MN (2006) An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*. 5(25): 2540-2568.

24. Shewry PR, Halford NG, Tatham AS, Popineau Y, Laciandra D and Belton PS (2003) The high molecular weight subunits of wheat glutenin and their role in determining wheat processing properties. *Advance Food Nutrient Research*. 45: 221-302 .
25. Singh NK, Sheperd KW and Cornish GB (1991) A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Cereal Science*. 14: 203-208 .
26. Smith RL, Schweder ME and Barnett RD (1994) Identification of glutenin alleles in wheat and triticale using PCR-generated DNA markers. *Crop Science*. 34: 1373-1378 .
27. Tanhaiyan A, Shahriari F, Marashi SH and Dehghan E (2009) Study of allelic variation at *Glu-b3* locus of the Iranian bread wheat cultivars by using ALP molecular marker. *Iranian Journal of researches agriculture*. 7: 367-374. (In Farsi)
28. Uthayakumaran S, Batey IL and Wrigley CW (2004) On-the-spot identification of grain variety and wheat-quality type by Lab-on-chip capillary electrophoresis. *Cereal Science*. 41: 371-374 .
29. Uthayakumaran S, Li stiohadi Y, Baratta M, Batey IL and W rigley CW (2006) Rapid identification and quantitation of high-molecular-weight glutenin subunits. *Cereal Science*. 44: 34-39 .
30. Van-Compenhout S, St appen JV, Sagi L and Volekaert G (1995) Locus-specific primers for LMW glutenin genes on each of the group 1 chromosomes of hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 91: 313-319 .
31. Xu Q, Xu J, Li u CL, Chang C, Wang CP, You MS, Li BY and Li u GT (2008) PC R-based markers for identification of HMW-GS at *Glu-B1x* loci in common wheat. *Cereal Science*. 47: 394-398 .