



ارتباط بین صفات کیفی دانه و نشانگرهای مولکولی SSR در برخی از ژنوتیپ‌های گندم نان

سمیه بهلوانی^۱، علی ایزانلو^۲، سهیل یارسا^۳ و محمدقادر قادری^۳

۱ و ۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه بیرجند
۲- استادیار، دانشگاه بیرجند، (نویسنده مسؤل: a.izanloo@birjand.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۱

چکیده

بهبود کیفیت نانوائی در گندم نان بستگی به درک کامل از اساس ژنتیکی صفات مهم مرتبط با کیفیت دانه دارد. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اساس ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت دانه شامل طول و عرض دانه، وزن هزاردانه، محتوی پروتئین دانه، عدد زنی، حجم نان، درصد رطوبت، سختی دانه، درصد جذب آب و حجم رسوب SDS و تعیین رابطه بین آنها با نشانگرهای مولکولی ریزماهواره با استفاده از رهیافت ارتباط بین صفت و نشانگر در ارقام گندم نان بود. در این تحقیق به منظور بررسی روابط بین ژنوتیپ و فنوتیپ از چهار جفت نشانگر ریزماهواره استفاده شد. در مجموع ۲۳ آلل چندشکل با میانگین ۳/۸۳ آلل به ازای هر جایگاه ریزماهواره در ژنوتیپها تکثیر شد. میزان اطلاعات چند شکلی برای نشانگرهای مورد بررسی از ۰/۳۶ تا ۰/۸۲ متغیر بود که جایگاه اول نشانگر wmc41 کمترین و جایگاه دوم نشانگر gwm608 بیشترین میزان PIC را داشتند. براساس تجزیه رگرسیون گام به گام، برای صفات طول دانه، وزن هزاردانه، حجم نان، سختی دانه و حجم رسوب SDS آللهایی از نشانگرهای مختلف وارد مدل شدند، ولی برای صفات محتوی پروتئین، عرض دانه، عدد زنی، درصد رطوبت و دصد جذب آب هیچ نشانگری وارد مدل نشد. برای صفت طول دانه دو آلل نشانگر gwm608-b5 و gwm644-b4، برای حجم نان دو آلل نشانگری wmc41-b5 و gwm644-a1، برای صفت سختی دانه دو آلل از نشانگر wmc41 (wmc41-b2 و wmc41-b4) وارد مدل شدند. برای صفات حجم رسوب SDS و وزن هزاردانه تنها یک آلل به ترتیب از نشانگرهای gwm608-b3 و gwm608-b2 وارد مدل شدند که در مجموع بین ۲۲٪ تا ۳۷٪ تغییرات را توجیه نمودند. نتایج نشان داد که نشانگرهایی با محتوی چندشکلی و تنوع ژنتیکی بالا در تفکیک و تمایز افراد نقش به‌سزایی داشتند.

واژه‌های کلیدی: نشانگرهای مولکولی ریزماهواره، محتوی پروتئین دانه

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) مهم‌ترین گیاه زراعی است که بطور وسیعی در سراسر جهان کشت می‌شود و یکی از منابع غذایی اصلی مورد استفاده در جهان و بویژه ایران می‌باشد. گندم بطور متوسط ۲۰٪ کل کالری و ۲۲٪ کل پروتئین در رژیم غذایی انسان را فراهم می‌کند (۹). دانه گندم بر اساس ویژگی‌های منحصر به فرد پروتئین‌های آن دارای استفاده‌های غذایی و غیر غذایی متعددی است (۲۳). پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه^۱ گندم از مهم‌ترین عوامل مؤثر در ایجاد تفاوت در کیفیت ارقام گندم محسوب می‌گردند. این پروتئین‌ها هنگامی که با آب مخلوط می‌شوند، شبکه‌ای را با ویژگی‌های منحصر به فرد چسبندگی و قابلیت کشسانی ۲ تشکیل می‌دهند که این خصوصیت منحصر به فرد توسط دو عامل کل محتوی پروتئین دانه ۳ و ترکیب نسبی گروه‌های مختلف پروتئین ذخیره‌ای تعیین می‌شود (۱۴). آرد مورد استفاده برای نان بایستی حاوی مقدار پروتئین کافی باشد تا خمیر حاصله خصوصیات کارکردی مناسبی را داشته باشد.

شامل پرولامین‌های گلیدین، گلوتمین (سنگین و سبک) هستند که ۶۰-۸۰٪ کل پروتئین دانه را تشکیل می‌دهند. پروتئین‌های ذخیره دانه غیر پرولامینی شامل آلفا-آمیلاز و بتا-آمیلاز (آلبومین‌ها)، تریتیسین (گلوبولین‌ها) و پورواپندولین‌ها می‌باشند. پروتئین‌های ذخیره‌ای آلبومین و گلوبولین که اثر کمی بر خصوصیات خمیر دارند، هرکدام حدود ۱۰٪ کل پروتئین در دانه‌های رسیده را تشکیل می‌دهند (۲۵). پورواپندولین‌ها که مسئول بیشتر تنوع مشاهده شده در سختی دانه می‌باشند، حدود ۵-۱۰٪ کل پروتئین دانه رسیده را تشکیل می‌دهند (۱۵).

محتوی پروتئین دانه اساساً تحت تاثیر ژنوتیپ رقم، شرایط محیطی و در دسترس بودن مواد غذایی است. یکی از اهداف برنامه‌های اصلاحی گندم افزایش محتوی پروتئین دانه در حین حفظ یا حتی افزایش عملکرد دانه آزاد شده برای تولید تجاری بوده است.

علی‌رغم اهمیت اقتصادی و غذایی محتوی پروتئین دانه، بهبود ژنتیکی آن از طریق روش‌های اصلاح کلاسیک بخاطر پیچیدگی ژنتیکی این صفت و اثر بالای محیط بر آن و وجود همبستگی منفی بین محتوی پروتئین دانه و عملکرد خیلی کند بوده است (۲۴). با این وجود، وارینه‌های استثنایی وجود دارند که دارای عملکرد عالی با مقادیر بالای محتوی پروتئین دانه بوده، و افزایش همزمان عملکرد و محتوی پروتئین دانه در جمعیت‌های هدف گزارش شده است (۶)، ولی تاکنون

امروزه به خوبی مشخص شده است که تنوع در میزان و نوع پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مسئول تفاوت‌های موجود در ارقام مختلف گندم‌های تجاری از نظر کیفیت و خواص غذایی آرد است، بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی کیفیت گندم، از پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به عنوان یک شاخص کلیدی و ارزشمند استفاده می‌شود (۱). پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه اصلی

1-Grain Storage Proteins (GSPs)

2-Viscoelasticity

3- Grain Protein Concentration (GPC)

درصد جذب آب به وسیله دستگاه اینفراماتیک ۸۶۰۰ (NIR PERTEN 8600) در بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر اندازه‌گیری گردیدند. حجم رسوب SDS طبق روش کارتر و همکاران با استفاده از یک گرم آرد تعیین گردید (۳).

استخراج DNA و انجام PCR

استخراج DNA ی ژنومی طبق روش سریع و کارآمد پالوتا و همکاران (۱۷) با اندکی تغییرات انجام شد. کمیت و کیفیت DNA نیز با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری با استفاده از دستگاه نانودراپ Thermo و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین گردید.

برای تکثیر جایگاه‌های ریزماهوره از چهار جفت نشانگر wmc41 (F:tcctctccaagcgcgtag) و gwm508 (R:ggaggaagatctccggagcag)، (R:gtgctgcatgatatt) و (F:ggtatagtagcatataatggc) gwm608 (F:acattgtgtgctggcc) و (R:gatccctctcgtagaagc) gwm644 (F:aggagtagcgtgagggc) که ارتباط آنها با محتوی پروتئین دانه گندم در منابع مشخص شده بودند، استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در حجم ۲۵ میکرولیتر با اجزاء، ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر (۰.۴ پیکومول)، ۰/۵ میکرولیتر مخلوط dNTP (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار) و ۰/۱۲۵ میکرولیتر از آنزیم DNA پلی‌مرز Taq (۵ واحدی) انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در دمای C ۹۴ به مدت ۳ دقیقه، ۴۵ چرخه با واسرشته‌سازی در دمای C ۹۴ به مدت ۴۵ ثانیه، C ۶۱ به مدت ۴۵ ثانیه و بسط در دمای C ۷۲ به مدت ۱ دقیقه و نهایتاً یک چرخه بسط نهایی به مدت ۷ دقیقه در دمای C ۷۲ بود. جداسازی محصولات تکثیر با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریلامید ۱۰ درصد انجام و رنگ‌آمیزی با استفاده از GelRed™ (ساخت شرکت Biotium Inc) صورت گرفت.

تجزیه‌های آماری

الگوهای نواری حاصل بصورت وجود یا عدم وجود نوار امتیازدهی شدند. همچنین برای هر نشانگر، جهت برآورد فراوانی‌های آلی و پارامترهای ژنتیکی هر جایگاه ریزماهوره و نیز فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها، آلل‌ها در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بصورت a, b و نام‌گذاری شدند. با استفاده از برنامه PowerMarker V.3.25 (۱۳) درصد هتروزیگوتی مورد انتظار و میزان اطلاعات چند شکل (PIC) برآورد گردیدند. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده و مقایسه اثر اصلی آلل‌های نشانگر بر صفات مختلف توسط نرم افزار GenStat V. 12.10 (۱۸) انجام شد. با توجه به این که اندازه‌گیری صفات درصد پروتئین، عدد زلنی، سختی دانه، جذب آب و حجم نان از مخلوط دانه‌های ۳ تکرار بدست آمده بود، لذا فاقد تکرار بودند و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها بر اساس آماره‌های توصیفی شامل بیشینه، کمینه، میانگین، انحراف معیار و دامنه تغییرات مربوط به این صفات محاسبه و

پیشرفتی در بهبود میزان پروتئین دانه حاصل نشده و ژنوتیپ‌های با عملکرد بالای گزینش شده در برنامه‌های به‌نژادی گندم محتوی پروتئین پایینی دارند (۱۶).

امروزه از روش‌های غیر مستقیم به منظور ارزیابی صفات مربوط به کیفیت نانویی به عنوان معیارهایی برای تخمین ارزش نانویی گندم در شناسایی ارقام مطلوب استفاده می‌شود. اندازه‌گیری میزان پروتئین، سختی دانه، درصد جذب آب، حجم نان، سختی دانه، حجم رسوب زلنی و SDS^۱ از جمله روش‌های غیرمستقیم برای تعیین کیفیت نانویی ارقام گندم می‌باشند (۲۰). با ابداع نشانگرهای مولکولی، در سال‌های اخیر اکثر فعالیت‌های به‌نژادی از سیستم‌های گزینش مبتنی بر فنوتیپ به ژنتیک مولکولی با تاکید بر شناسایی مکان‌های صفات کمی (QTL) و گزینش به کمک نشانگر (MAS) تغییر جهت داده است.

گزینش از طریق نشانگر روش قدرتمندی برای گزینش صفاتی مانند محتوی پروتئین دانه و صفات کیفی دیگر است که اندازه‌گیری آنها مشکل بوده یا در مراحل آخر دوره رشدی بیان می‌شوند و دارای وراثت‌پذیری پایینی هستند (۱۹،۴،۲۲). رویکرد استفاده از MAS همچنین ابزاری قدرتمندی را برای ارزیابی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص قبل از بررسی‌های فنوتیپی فراهم می‌نماید (۱۰).

نشانگرهای مولکولی متعددی در ارتباط با صفت محتوی پروتئین دانه و خصوصیات ظاهری دانه در گندم‌های هگزپلوئید و تتراپلوئید شناسایی شده‌اند (۱۹،۱۱،۸،۷). اکثر این نشانگرها براساس روش‌های رگرسیون ساده یا لینکاژ شناسایی شده‌اند. شناسایی و تعیین خصوصیت منابع ژنتیکی گندم با استفاده از نشانگرهای مولکولی و تعیین ارتباط بین نشانگر و صفت از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا اطلاعات کسب شده از وضعیت ژنتیکی می‌تواند در تحقیقات و برنامه‌های اصلاحی آینده‌ی گندم مورد استفاده قرار گیرد. بهبود کیفیت نانویی در گندم نان بستگی به درک کامل از اساس ژنتیکی صفات مهم مرتبط با کیفیت دانه دارد. بنابراین، هدف از این مطالعه شناسایی ژنوتیپ‌های با کیفیت نانویی بالا بر اساس صفات کیفی دانه و بررسی اساس ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت دانه و تعیین رابطه بین آنها با نشانگرهای مولکولی ریزماهوره با استفاده از رهیافت ارتباط بین صفت و نشانگر در ارقام گندم نان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش ۲۵ رقم گندم نان سازگار به مناطق گرم و خشک مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۳). آزمایش در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. پس از برداشت، ۵ سنبله بطور تصادفی از هر واحد آزمایشی انتخاب و صفات ظاهری دانه شامل طول و عرض دانه (میانگین ۵ دانه) و وزن هزاردانه اندازه‌گیری شد. کل محتوی پروتئین دانه طبق روش لیسترا و همکاران توسط دستگاه کج‌دلال صورت گرفت (۱۲). همچنین، صفات درصد پروتئین، عدد زلنی، حجم نان، درصد رطوبت، سختی دانه و

ارزیابی شدند. روابط بین صفات با محاسبه همبستگی ساده بررسی شد. شباهت نشانگرها در بین ژنوتیپها بر اساس تجزیه فاصله بین متغیرهای باینری براساس ضریب تطابق ساده با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. تجزیه خوشه‌ای برای گروه‌بندی ژنوتیپها بر اساس ضریب تطابق ساده از طریق الگوریتم متوسط لینکاژ (درون گروه‌ها) و رگرسیون گام به گام به منظور یافتن آلل‌های موثر بر صفات کیفی دانه و تجزیه به عامل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. در تجزیه رگرسیون گام به گام صفات به عنوان متغیر وابسته و آلل‌های نشانگر به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای صفات طول و عرض مورد مطالعه بود. به منظور بررسی دقیق این تفاوت‌ها، میانگین صفات کیفی برای ژنوتیپ‌های مختلف برآورد گردید که در جدول ۲ ارائه شده است تجزیه همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه نشان داده دانه، وزن هزار دانه و درصد پروتئین دانه‌ی برآورد شده به روش کج‌لدال نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح وزن احتمال ۱٪ بین ژنوتیپ‌ها در کلیه این صفات وجود دارد (جدول ۱). این نتایج نشان‌دهنده

تنوع بالایی برای صفاتکه صفت طول بذر همبستگی مثبت معنی‌داری با عرض بذر ($r=0.51^{**}$) و وزن هزاردانه ($r=0.66^{**}$) داشت، ولی با میزان پروتئین براساس روش کج‌لدال همبستگی منفی در سطح احتمال ۵٪ نشان داد. صفت عرض بذر با وزن هزاردانه همبستگی مثبت و معنی‌دار ($r=0.78^{**}$) ولی با میزان پروتئین و عدد زلنی همبستگی منفی معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب $r=-0.81^{**}$ و $r=-0.56^{**}$). رابطه منفی معنی‌داری در سطح ۵٪ بین وزن هزاردانه و درصد پروتئین مشاهده گردید محتوی پروتئین دانه با عدد زلنی، سختی دانه، درصد جذب آب و حجم رسوب SDS مثبت و معنی‌دار بود. صفات حجم نان و درصد رطوبت با هیچ یک صفات دیگر همبستگی نشان ندادند (جدول ۳).

پارامترهای ژنتیکی جایگاه ریزماهواره

در این تحقیق، چهار جفت نشانگر ریزماهواره مورد مطالعه توانستند الگوی نواری چندشکلی را ارائه دهند که مشخصات نشانگرهای چندشکل حاصل از این آغازگرها و الگوی نواری آنها به ترتیب در جدول (۴) و شکل (۱) ارائه شده است. از بین آغازگرهای مورد استفاده، آغازگرهای gw644 و wmc41 دو جایگاه ژنومی را تکثیر کردند. که این امر می‌تواند ناشی از خاصیت آمفی‌پلوئیدی گندم و یا از چند مکانه بودن جایگاه تکثیر این نشانگرها باشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات طول و عرض دانه، وزن هزاردانه و درصد پروتئین دانه در ژنوتیپ‌های گندم نان

Table 1. Analysis of variance for kernel length (KL) and width (KW), 1000-kernel weight (TKW) and grain protein content (GPC) in bread wheat genotyp

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول دانه	عرض دانه	وزن هزار دانه	درصد پروتئین دانه [†]
	df	KL	KW	TKW	GPC (%)
تکرار	۲	۰/۱۳۸*	۰/۰۲۳ ^{ns}	۱/۷۹ ^{ns}	۰/۰۴۳ ^{ns}
ژنوتیپ	۲۴	۰/۳۸۵**	۰/۲۰۷**	۱۴۱/۵۳**	۹/۰۵**
خطا	۴۲	۰/۰۳۲	۰/۰۲۷	۱۶/۱۲	۲/۲۳
ضریب تغییرات (%)	CV (%)	۲/۸۱	۵/۴۴	۱۱/۶۱	۹/۶۱

* و ns به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲- میانگین صفات کیفی اندازه‌گیری شده برای ژنوتیپ‌های مختلف گندم نان

Table 2. Mean of quality traits for different bread wheat genotypes

شماره	نام ژنوتیپ	Genotype Name	طول بذر (mm)	عرض بذر (mm)	وزن هزاردانه (g)	محتوی پروتئین دانه (%) کجدال	محتوی پروتئین (%) NIR	شماره زلی	حجم نان	سختی دانه	جذب آب	حجم رسوب
			KL (mm)	KW (mm)	TKW (g)	GPC (%)	Protein content-NIR (%)	Zeleni No.	Bread Volume	Hardness Index	Water Absorption (%)	SDS
۱	الموت	Alamot	۶/۲۳	۲/۹۵	۳۲/۷۳	۱۶/۴۱	۱۱/۸	۳۳	۵۰۷	۴۵	۶۴/۲	۵۷
۲	الوند	Alvand	۶/۲۵	۲/۱۵	۳۱/۸۵	۱۴/۱۰	۱۲/۲	۳۳	۴۹۴	۵۱	۶۵/۴	۵۹
۳	آذر ۲	Azar2	۶/۸۵	۲/۲۴	۴۲/۹۹	۱۳/۵۸	۱۱/۷	۳۲	۵۱۰	۴۷	۶۳/۵	۷۵
۴	بزوستایا	Bezostaja	۶/۳	۲/۲۲	۳۸/۸۴	۱۷/۰۷	۱۲	۳۲	۵۳۳	۴۹	۶۵/۵	۷۰
۵	هیرمند	Hirmand	۶/۴۴	۲/۲۵	۴۲/۲۵	۱۳/۹۷	۱۱/۵	۳۲	۵۰۷	۴۵	۶۲/۹	۵۵
۶	قدس	Qouds	۶/۰۷	۲/۰۷	۳۹/۸۷	۱۴/۰۴	۱۱/۹	۳۳	۵۰۳	۵۲	۶۵/۲	۵۵
۷	نیک نژاد	Niknejad	۶/۱۶	۲/۹۵	۳۹/۹۳	۱۱/۷	۱۴/۷۱	۳۲	۵۲۰	۴۴	۶۳/۵	۵۳
۸	شوله	Shole	۶/۷۶	۲/۱۱	۳۳/۷۶	۱۴/۸۵	۱۳/۱	۳۵	۴۶۰	۵۱	۶۵/۲	۶۵
۹	کرج ۳	Karaj3	۵/۸۵	۲/۵۲	۲۱/۱۳	۱۷/۵۹	۱۳/۳	۳۶	۵۲۵	۵۰	۶۵/۲	۶۳
۱۰	اکبری	Akbari	۶/۹۴	۲/۲۸	۳۷/۵۷	۱۱/۷۷	۱۱/۹	۳۲	۵۰۶	۴۴	۶۳/۲	۷۳
۱۱	کوکری	Kukri	۵/۹۹	۲/۵	۲۵/۰۳	۱۹/۶۵	۱۳/۸	۳۷	۴۵۸	۵۰	۶۶/۲	۷۷
۱۲	داراب ۲	Darab2	۶/۴۱	۲/۱۱	۳۹/۵	۱۴/۶۵	۱۲	۳۵	۵۲۰	۵۲	۶۴	۶۰
۱۳	کویر	Kavir	۶/۰۷	۲/۱۷	۳۷/۲۱	۱۵/۴۳	۱۲/۲	۳۳	۴۶۷	۴۹	۶۵/۲	۶۳
۱۴	اسکلیبر	Excalibure	۶/۲۱	۲/۳۵	۲۲/۴۱	۲۰/۰۸	۱۳/۳	۳۵	۴۵۰	۴۸	۶۶	۷۵
۱۵	گلادیوس	Gladious	۵/۳۹	۲/۷۹	۲۸/۰۷	۱۸/۴۱	۱۳	۳۵	۴۸۱	۵۰	۶۵/۲	۷۵
۱۶	هامون	Hamon	۶/۶	۲/۱۸	۴۲/۰۱	۱۴/۳۲	۱۲/۳	۳۴	۵۲۰	۴۹	۶۵/۲	۶۶
۱۷	روشن	Roshan	۶/۸۲	۲/۱۳	۵۰/۸۲	۱۵/۹۵	۱۲/۹	۳۶	۴۶۱	۵۲	۶۶	۶۰
۱۸	رسول	Rasol	۶/۴۹	۲/۱۵	۴۰/۶۲	۱۴/۹۸	۱۲/۷	۳۵	۵۱۷	۴۶	۶۵/۷	۷۰
۱۹	شاهپسند	Shahpasand	۶/۶۲	۲/۷۷	۳۱/۶۲	۱۹/۵۳	۱۳/۵	۳۵	۵۶۵	۴۹	۶۵/۲	۷۵
۲۰	پیشناز	Pishtaz	۶/۷۴	۲/۳۷	۳۹/۴۴	۱۵/۳۸	۱۲/۲	۳۴	۴۶۸	۵۰	۶۵/۷	۷۲
۲۱	استار	Star	۶/۳۳	۲/۱۶	۳۵/۳۱	۱۵/۴۶	۱۲/۳	۳۴	۵۱۰	۴۵	۶۵/۱	۷۳
۲۲	وریناک	Verinak	۶/۴	۲/۹۶	۳۱/۳۷	۱۴/۰۶	۱۲/۴	۳۴	۴۵۷	۵۰	۶۵/۲	۶۸
۲۳	اترک	Atrak	۵/۹	۲/۰۵	۳۱/۲۷	۱۴/۸۱	۱۱/۶	۳۲	۵۰۲	۴۶	۶۳/۲	۵۰
۲۴	شیراز	Shiraz	۶/۳۸	۲/۰۷	۳۴/۸	۱۴/۲۷	۱۱/۹	۳۳	۴۸۲	۴۵	۶۵	۴۸
۲۵	زرین	Zarin	۶/۱۸	۲/۳۲	۳۲/۸	۱۲/۹۹	۱۲	۳۴	۵۴۳	۵	۶۶/۲	۷۴
	میانگین	Mean	۶/۳۴	۲/۰۳	۳۴/۶۱	۱۵/۵۲	۱۲/۳۷	۳۳/۸۴	۴۹۸/۶۴	۴۸/۳۶	۶۴/۹۲	۶۵/۲۴
	کمینه	Min.	۵/۳۹	۲/۱۳	۲۱/۱۳	۱۱/۷۷	۱۱/۵	۳۲	۴۵۰	۴۴	۶۲/۹	۴۸
	بیشینه	Max.	۶/۹۴	۲/۳۷	۵۰/۸۲	۲۰/۰۸	۱۳/۸	۳۷	۵۶۵	۵۲	۶۶/۲	۷۷
	دامنه تغییرات	Range	۱/۵۵	۱/۰۲	۳۹/۶۹	۸/۳۱	۲/۳	۵	۱۱۵	۸	۲/۳	۲۹
	انحراف معیار	Std.	-/۳۶	-/۲۶	۶/۸۷	۲/۱۳	-/۶۵	۱/۴۶	۳۰/۰۳	۲/۶۴	-/۹۹	۸/۸۴

جدول ۳- همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه

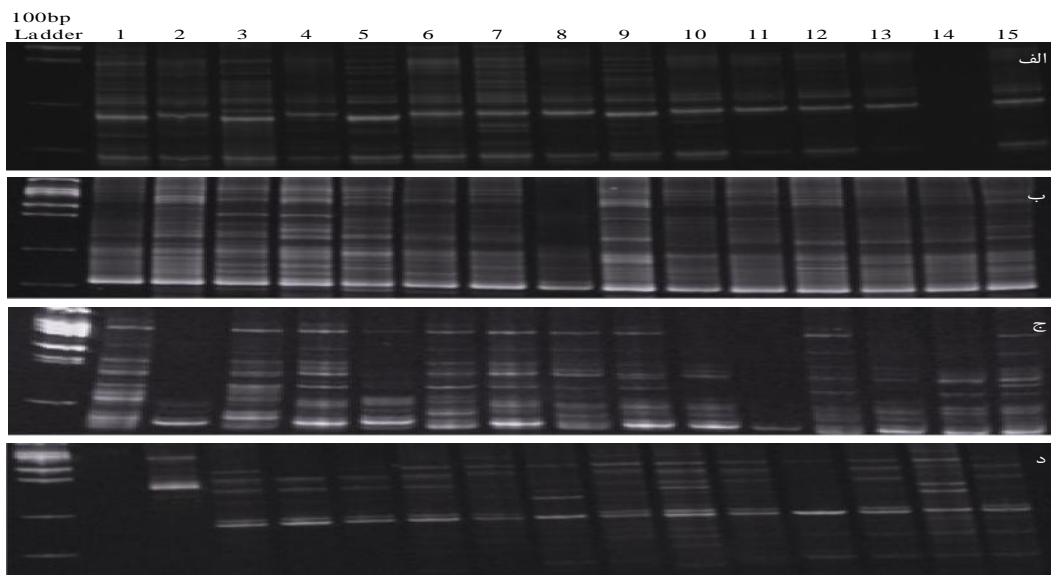
Table 3. Phenotypic correlation between the studied traits

شماره صفت	صفات	Traits	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱
۱	طول بذر (mm)	Kernel Length (mm)											
۲	عرض بذر (mm)	Kernel Width (mm)	۰/۵۰۹**										
۳	وزن هزاردانه (g)	TKW (g)	۰/۶۶۵**	۰/۷۷۶**									
۴	محتوی پروتئین دانه (%) کجدال	GPC (%) Kejeldahl	۰/۴۱۷*	۰/۸۰۹**	۰/۵۰۲*								
۵	محتوی پروتئین (%) NIR	Protein content-NIR (%)	۰/۱۴۵	۰/۷۰۹**	۰/۴۲۳*	۰/۷۶۲**							
۶	عدد زلنی	Zeleni No.	۰/۱۳۶	۰/۵۶۳**	۰/۲۵۲	۰/۵۹۷**	۰/۸۸۱**						
۷	حجم نان	Bread Volume	۰/۰۲۴	۰/۲۱۱	۰/۰۸۳	۰/۱۳۷	۰/۲۵۸	۰/۲۶۱					
۸	درصد رطوبت	MOIST	۰/۰۰۳	۰/۱۲۳	۰/۱۶۸	۰/۲۲۸	۰/۰۰۷	۰/۰۹۱					
۹	سختی دانه	HI	۰/۰۸۶	۰/۱۱۲	۰/۰۴۹	۰/۲۱۴	۰/۴۳۷*	۰/۵۵۴**	۰/۲۱۶	۰/۱۷۶			
۱۰	درصد جذب آب	WA	۰/۱۲۴	۰/۲۷	۰/۱۸۸	۰/۴۵۶*	۰/۶۵۱**	۰/۶۷۳**	۰/۲۶۷	۰/۱۸۸	۰/۵۹۳**		
۱۱	حجم رسوب	SDS	۰/۱۲۵	۰/۱۶۸	۰/۰۹	۰/۳۵۸	۰/۵۲۷**	۰/۳۹۹*	۰/۰۰۴	۰/۲۷۱	۰/۱۷۶	۰/۴۲۹*	

جدول ۴- پارامترهای ژنتیکی نشانگرهای مولکولی مورد مطالعه

Table 4. Genetic parameters of studied molecular markers

نشانگرهای SSR	موقعیت کروموزومی	فراوانی آلل رایج	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	تعداد نوار	محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC)
SSR Markers	Chromosomal position	Freq. of prevailing allele	Expected Heterozygosity	No. of bands	
gwm644-1	3B, 6B, 7B	۰/۷۶	۰/۳۵	۴	۰/۳۶
gwm644-2		۰/۳۶	۰/۸۳	۱۲	۰/۸
gwm608-2	2D, 4D, 6B	۰/۳۶	۰/۸۴	۱۳	۰/۸۲
gwm508	6BS	۰/۴	۰/۷۲	۵	۰/۶۹
wmc41-1	2DL	۰/۸	۰/۳۲	۲	۰/۳۶
wmc41-2		۰/۴	۰/۸	۹	۰/۷۶
میانگین	Mean	۰/۵۱	۰/۶۴	۷/۶۶	۰/۶۱



شکل ۱- الگوی نواری تکثیر شده برای آغازگرهای ریزماهوره الف) *gwm508* ب) *gwm608* ج) *gwm644* و د) *wmc41* برای ژنوتیپ‌های ۱۵-۱

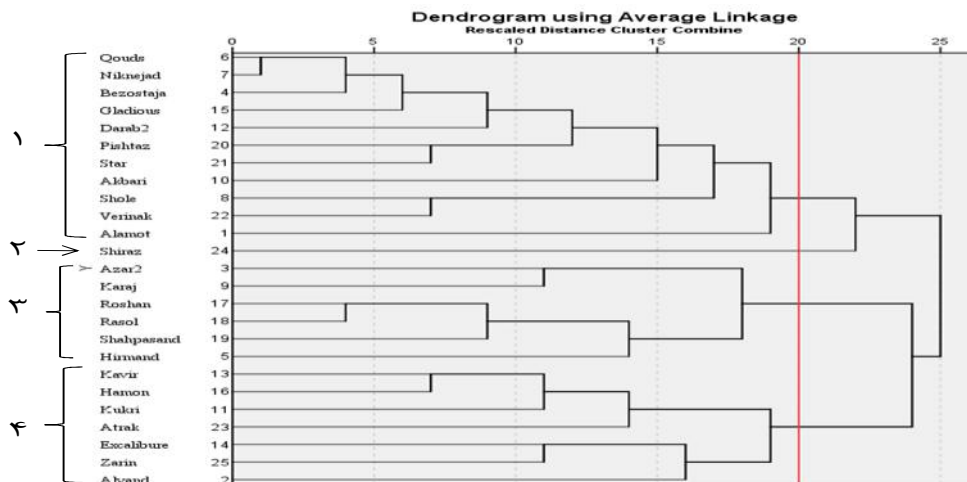
Figure 1. The pattern of amplified fragments for microsatellite primers; A) *gwm508*, B) *gwm608*, C) *gwm644* and D) *wmc41* for the genotypes of 1 to 15

ریزماهوره ۰/۶۷۴ گزارش کردند (۲۷). مقایسه تعداد آلل و فراوانی آلل رایج در جایگاه‌های ریزماهوره نشان داد که نشانگرهایی با تعداد آلل کمتر، حداکثر فراوانی آلل رایج را داشتند. با بررسی سه پارامتر مذکور مشخص شد که نشانگرهایی با PIC و تنوع ژنی بالا، فراوانی آلل رایج کمتری داشتند. بنابراین، جایگاه‌هایی با فراوانی آلل رایج کمتر قدرت تمایز بیشتری را خواهند داشت. در این مطالعه نیز جایگاه دوم نشانگر *wmc41* جزء نشانگرهای با PIC و تنوع ژنی بالا و همچنین دارای فراوانی آلل رایج بالایی بود.

تجزیه خوشه‌ای

نتایج تجزیه و تحلیل خوشه‌ای بر اساس شباهت ژنتیکی بین متغیرهای باینری، چهار گروه اصلی را بین ۲۵ ژنوتیپ گندم مشخص نمود (شکل ۲). در گروه اول ۱۱ ژنوتیپ شامل قدس، نیک‌نژاد، بزوستابا، گلادیوس، داراب ۲، پشتاز، استار، اکبری، شعله، وریناک، و الموت قرار گرفتند. ژنوتیپ شیراز به تنهایی در گروه دو بطور مجزا قرار گرفت. در گروه سوم ژنوتیپ‌های آذر ۲، کرج، روشن، رسول، شاهپسند و هیرمند قرار گرفتند. در گروه چهارم، ژنوتیپ‌های کویر، هامون، کوکری، اترک، اسکلیبر، ذرین و الوند قرار گرفتند.

۴ جفت نشانگر مورد بررسی با تکثیر ۷ جایگاه ریزماهوره در مجموع ۲۳ آلل چندشکل با میانگین ۳/۸۳ آلل به ازای هر جایگاه ریزماهوره در ۲۵ ژنوتیپ گندم تولید کردند. جایگاه اول نشانگر *wmc41* با ۲ آلل کمترین تعداد و جایگاه دوم نشانگر *gwm608* با ۱۳ آلل بیشترین تعداد آلل را دارا بودند. میزان اطلاعات چندشکلی برای نشانگرهای مورد بررسی در این مطالعه از ۰/۲۶ تا ۰/۸۲ با میانگین ۰/۶۱ متغیر بود که جایگاه اول نشانگر *wmc41* کمترین و جایگاه دوم نشانگر *gwm608* بیشترین میزان PIC را داشتند. هتروزیگوتی مورد انتظار از ۰/۳۵ (*wmc41-1*) تا ۰/۸۲ (*gwm608-2*) با میانگین ۰/۶۶ متغیر بود. میزان اطلاعات چندشکلی، یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از لحاظ قدرت تمایز آنها می‌باشد. مقادیر بالای این معیار دلالت بر چند شکلی زیاد و وجود آلل یا آلل‌های نادر در یک جایگاه نشانگری است، که در تفکیک و تمایز افراد نقش بسزایی دارد. بنابراین نشانگرهایی با PIC بالا برای تمایز ژنوتیپ‌هایی با خویشاوندی نزدیک بسیار مفید خواهند بود. فراوانی آلل رایج در این مطالعه از ۰/۳۶ (*gwm608-2*, *gwm644-2*) تا ۰/۷۶ (*gwm644-1*) متغیر بود. وی و همکاران (۲۰۰۵) میانگین میزان اطلاعات چندشکلی را برای نشانگرهای



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های گندم نان براساس ضرایب تطابق ساده بین نشانگرهای SSR به روش متوسط لینکاژ (UPGMA)

Figure 2. Dendrogram of cluster analysis of bread wheat genotypes based on simple matching coefficients between SSR markers using UPGMA method

دانه، عدد زلنی، درصد رطوبت و دسد جذب آب هیچ نشانگری وارد مدل نشد. پرساد و همکاران (۲۰) که از نشانگر wmc41 به منظور تعیین ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفت محتوی پروتئین دانه استفاده کردند، گزارش کردند که این نشانگر در جامعه‌ای با ۱۰۰ نمونه فقط توانست ۱۸/۷۳ درصد از تغییرات محتوی پروتئین را توجیه کند.

ارتباط بین صفت با نشانگر

نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام به گام، که صفات اندازه گیری شده به عنوان متغیر وابسته و آل‌های نشانگر به عنوان متغیرهای مستقل بودند، در جدول (۶) آمده است. در این تجزیه، برای صفات طول دانه، وزن هزاردانه، حجم نان، سختی دانه و حجم رسوب SDS آل‌هایی از نشانگرهای مختلف وارد مدل شدند. برای صفات محتوی پروتئین، عرض

جدول ۵- رگرسیون گام به گام صفات کیفی و آل‌های وارد شده به مدل برای صفات طول دانه، وزن هزاردانه، حجم نان، سختی دانه و حجم رسوب SDS

Table 5. Stepwise regression of quality traits and the entered alleles to the model for kernel length, 1000-kernel weight, bread volume, grain hardness and SDS sedimentation volume

R ² تصحیح شده	ضرایب استاندارد			ضرایب غیر استاندارد		مدل	صفت وابسته
	Adjusted R ²	Sig.	t	Standardized Coefficients Beta	Unstandardized Coefficients Std. Error		
۰/۳۷	۰	۷۶/۶۲۷	-۰/۴۸۳	-۰/۱۱۴	۶/۵۸۴	(Constant)	طول دانه (mm)
						gwm608_b5	Kernel Length (mm)
						gwm644_b4	
۰/۲۲	۰	۲۱/۰۹۱	-۰/۴۶۳	۱/۷۹۵	۳۷/۸۵۴	(Constant)	وزن هزار دانه
						gwm608_b2	TGW (g)
۰/۲۶	۰	۷۷/۳۰۲	-۰/۴۷۲	۱۲/۲۱۵	۵۰۰/۲۶۶	(Constant)	حجم نان
						wmc41_b5	B.V.
						gwm644_a1	
۰/۲۹	۰	۳۲/۰۵۷	-۰/۴۷۳	-۰/۹۶۲	۵۲/۸۱۴	(Constant)	سختی دانه
						wmc41_b4	HI
						wmc41_b2	
۰/۲۳	۰	۳۸/۸۲۸	-۰/۴۱۱	۱/۷۳۷	۶۷/۴۵	(Constant)	حجم رسوب
						gwm608_b3	SDS

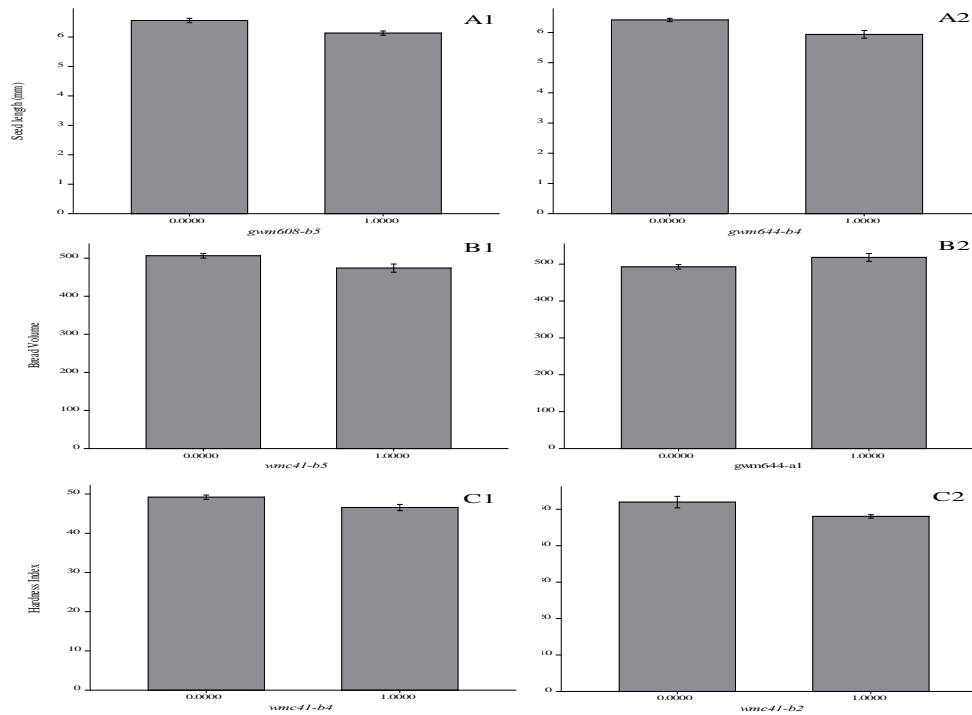
ارتباط معنی‌داری را بین صفت طول دانه با نشانگر gwm539 بر روی بازوی بلند کروموزم 2D پیدا کردند (۲). این نشانگر بر اساس نقشه ژنتیکی تلفیقی سوریدیل و همکاران (۲۶) در فاصله‌ی ۴cM از نشانگر gwm608 قرار دارد، که در این مطالعه ارتباط معنی‌داری با طول دانه نشان داد. برای صفت وزن هزاردانه، تنها یک آلل از نشانگر gwm608-b2 وارد مدل شد، که حدود ۲۲٪ از تغییرات را توجیه نمود. در این جایگاه ۱۳ ژنوتیپ وجود باند و ۱۲ ژنوتیپ عدم باند را نشان دادند که متوسط وزن هزاردانه آن‌ها به ترتیب ۳۱/۶۱ و ۳۷/۸۵ گرم بود و اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنی‌دار گردید ($P=0.02$) (شکل ۴).

برای صفت طول دانه دو نشانگر gwm608-b5 و gwm644-b4 وارد مدل شدند که در مجموع ۳۷٪ تغییرات را توجیه نمودند. در جایگاه نشانگر gwm608-b5، ۱۳ ژنوتیپ واجد باند و ۱۲ ژنوتیپ فاقد باند بودند که متوسط طول دانه برای آن‌ها به ترتیب ۶.۱۸ و ۶.۵۲ میلیمتر بود (جدول ۶، شکل ۳ A1 و A2). تجزیه واریانس نیز برای صفت طول دانه در این جایگاه نشانگر، معنی‌دار بودن آن را نشان داد ($P=0.007$). در جایگاه gwm644-b4، ۴ ژنوتیپ دارای باند و ۱۱ ژنوتیپ فاقد آن بودند که متوسط طول دانه به ترتیب ۵.۹۸ و ۶.۴۱ میلی‌متر بود که اختلاف بین آن‌ها از نظر آماری نیز معنی‌دار گردید ($P=0.012$). بریسی‌قلو و سورلز (۲) در مطالعه نقشه یابی ارتباطی صفات اندازه بذر و کیفیت نانویی،

جدول ۶- میانگین صفات برای کلاسهای مختلف نشانگری که بطور معنی‌داری وارد مدل شده بودند.

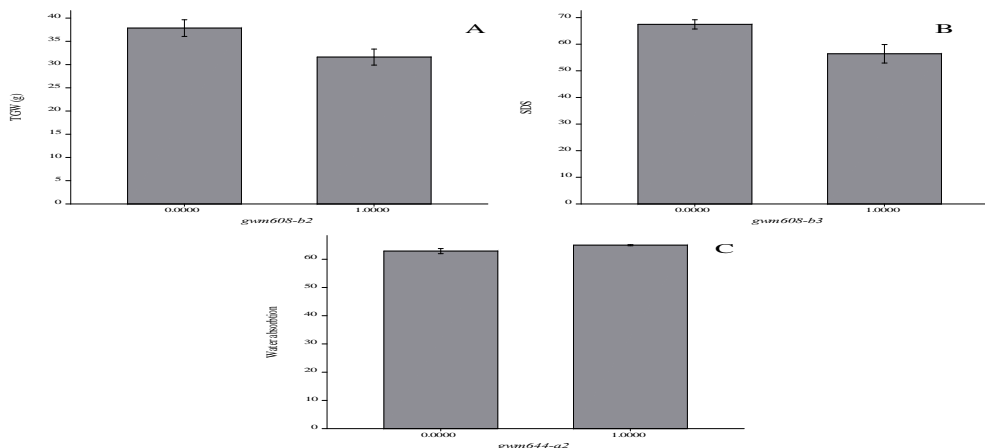
Table 6. Mean of traits for different marker classes that significantly entered to the model

P-value	میانگین (خطای معیار)		وجود/عدم وجود نوار		قطعه نشانگر Marker fragment	صفت traits
	Mean (se)	No. of genotypes	Present/Absent of band	تعداد ژنوتیپ‌ها		
-/.۰۰۷	۶/۱۸ (۰/۰۸)	۱۳	۱	تعداد ژنوتیپ‌ها	gwm608_b5	طول دانه (mm)
	۶/۵۲ (۰/۰۸)	۱۲	.	وجود/عدم وجود نوار		
-/.۰۱۲	۵/۹۸ (۰/۱۴)	۴	۱	تعداد ژنوتیپ‌ها	gwm644_b4	Kernel Length (mm)
	۶/۴۱ (۰/۰۶)	۲۱	.	وجود/عدم وجود نوار		
-/.۰۲	۳۱/۶۱ (۱/۷۲)	۱۳	۱	تعداد ژنوتیپ‌ها	gwm608_b2	وزن هزار دانه TGW (g)
	۳۷/۸۵ (۱/۸)	۱۲	.	وجود/عدم وجود نوار		
-/.۰۱۴	۴۷۳/۹ (۱۰/۶۳)	۶	۱	تعداد ژنوتیپ‌ها	wmc41_b5	حجم نان
	۵۰۶/۴ (۵/۹۵)	۱۹	.	وجود/عدم وجود نوار		
-/.۰۴۷	۵۱۸/۲ (۱۰/۶۳)	۶	۱	تعداد ژنوتیپ‌ها	gwm644_a1	B.V.
	۴۹۲/۵ (۵/۹۵)	۱۹	.	وجود/عدم وجود نوار		
-/.۰۱۲	۴۶/۵۷ (۰/۷۹)	۸	۱	تعداد ژنوتیپ‌ها	wmc41_b4	سختی دانه
	۴۹/۳ (۰/۵۴)	۱۷	.	وجود/عدم وجود نوار		
-/.۰۲۷	۴۸/۰۵ (۰/۴۷)	۲۳	۱	تعداد ژنوتیپ‌ها	wmc41_b2	HI
	۵۱/۹۷ (۱/۵۹)	۲	.	وجود/عدم وجود نوار		
-/.۰۰۹	۵۶/۴ (۲/۴۷)	۵	۱	تعداد ژنوتیپ‌ها	gwm608_b3	حجم رسوب SDS
	۶۷/۴۵ (۱/۷۴)	۲۰	.	وجود/عدم وجود نوار		



شکل ۳- نمودار میله‌ای نشان‌دهنده میانگین صفات برای کلاس‌های نشانگری؛ A1 و A2) میانگین طول دانه برای آللهای نشانگر -gwm608-b5 و b5 و gwm644-b4) میانگین حجم نان برای آللهای نشانگر wmc41-b5 و gwm644-a1 (B1 و B2) میانگین سختی دانه برای آللهای نشانگر wmc41-b4 و wmc41-b2 (C1 و C2).

Figure 3. Bar chart representing the mean of traits for marker classes; A1 and A2) mean of kernel length for gwm608-b5 and gwm644-b4 marker alleles, B1 and B2) mean of bread volume for wmc41-b5 and gwm644-a1 marker alleles, C1 and C2) mean of grain hardness for wmc41-b4 and wmc41-b2 marker alleles.



شکل ۴- نمودار میله‌ای نشان‌دهنده میانگین صفات برای کلاس‌های نشانگری؛ A) میانگین وزن هزار دانه برای آللهای نشانگر gwm608-b2 (B) میانگین حجم رسوب SDS برای نشانگر gwm608-b3 (C) میانگین درصد جذب آب برای نشانگر gwm644-a2.

Figure 4. Bar chart representing the mean of traits for marker classes; A) mean of 1000-kernel weight for gwm608-b2 marker allele, B) mean of SDS sedimentation volume for gwm608-b3 marker allele, and C) mean of water absorption for gwm644-a2 marker allele.

این مطلب مهم است که عوامل تأثیرگذار محیطی و مدیریتی، نقش بسزایی در کمیت و حتی کیفیت این صفات داشته و می‌توان این مهم را به‌خصوص در صفت درصد پروتئین دانه شاهد بود. از آنجایی که رابطه نزدیک بین تمامی عوامل مدیریتی محیطی و صفت درصد پروتئین وجود دارد، می‌توان عوامل مذکور را جزء متغیرهای تأثیرگذار بر ارتباط بین ژنوتیپ و فنوتیپ معرفی کرد.

تنوع موجود در جمعیت به لحاظ صفت درصد پروتئین دانه توسط نشانگرهای ریزماهواره مورد مطالعه توصیف پذیر نبود، که دلیل آن ممکن است اثر جایگاه (های) ژنی احتمالی دیگر و یا نتیجه اثر متقابل ژنوتیپ و محیط باشد. زانتی و همکاران (۲۸) بیان نمودند که میزان پروتئین دانه در گندم به لحاظ ژنتیکی یک ویژگی کمی بوده و تحت تأثیر عوامل محیطی و مدیریت زراعی قرار می‌گیرد. در گندم نان با استفاده از لاین‌های نوترکیب تعداد نه QTL روی کروموزوم‌های 5B, 7A, 6B, 7B, 3B, 4A, 5A, 7D گزارش شده‌است که در مجموع حدود ۵۱ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در گندم نان را توجیه نمودند (۲۸).

البته اثرات پلیوتروپیک ژن‌های بزرگ همچنین می‌تواند الگوی ارتباطی بین صفات کمی با نشانگرهای مولکولی را تغییر دهد (۳). کاونتری و همکاران (۵) نشان دادند که مکان صفات کمی اندازه دانه در جو غالباً تحت تأثیر ژن‌های نموی بوده‌است. بنابراین، اثر ژن‌های کنترل‌کننده ارتفاع (Rht)، بهاره‌سازی (Vrn1)، فتوپریود (Ppd1) و غیره را نیز نباید فراموش کرد.

در این مطالعه، روابط معنی داری بین صفات ظاهری دانه، و صفات کیفی با نشانگرهای مولکولی SSR پیدا شد. این مطالعه گام اولیه و اساسی برای یافتن رابطه بین نشانگرهای مولکولی با صفات کیفی دانه می‌باشد، که می‌توان در جمعیت‌های بزرگتر برای گزینش ارقام از طریق گزینش به کمک نشانگر به منظور گزینش ارقام با صفات کیفی دانه مطلوب بهره برد. البته تایید این نتایج ضروری است، زیرا آلل‌های نشانگری همبستگی نشان داده‌اند و لی بطور دقیق پیش‌بینی کننده آلل‌های ژن نیستند. برای تایید این نتایج نیاز به بکار بردن تعداد نشانگرهای بیشتر در یک جمعیت تقریباً یکنواخت و همچنین استفاده از نشانگرهای کارکردی ژن‌های بزرگ اثر دارای اثرات احتمالی پلیوتروپیک بر صفات کیفی دانه می‌باشد.

برای صفت حجم نان دو آلل نشانگری wmc41-b5 و gwm644-a1 وارد مدل شدند، که در مجموع ۲۶٪ تغییرات را توجیه نمود. در جایگاه wmc41-b5، ژنوتیپ دارای باند و ۱۹ ژنوتیپ باند مورد نظر را نداشتند، که متوسط حجم نان در آن‌ها به ترتیب ۴۷۳.۹ و ۵۰۶.۴ بود (جدول ۷ و شکل ۳ B1 و B2). ژنوتیپ‌های فاقد باند در این جایگاه دارای حجم نان بالاتری نسبت به ژنوتیپ‌های دارای باند بودند. در جایگاه gwm644-a1 ۶ ژنوتیپ دارای باند و ۱۹ ژنوتیپ فاقد باند بودند که متوسط حجم نان آن‌ها به ترتیب ۵۱۸.۲ و ۴۹۲.۵ بود. برای صفت سختی دانه دو آلل از نشانگر wmc41-b4 و wmc41-b2 وارد مدل شدند. این دو آلل در مجموع ۲۹٪ تغییرات را توجیه نمودند. تعداد ژنوتیپ‌های دارای کلاس نشانگری ۰ و ۱ در آلل wmc41-b4 به ترتیب ۸ و ۱۷ بودند، که متوسط ضریب سختی دانه برای آن‌ها به ترتیب ۴۶.۵۷ و ۴۹.۲ بود (جدول ۵ و ۶). در جایگاه دیگر ۲۳ ژنوتیپ باند مورد نظر را داشتند و ۲ ژنوتیپ فاقد باند بودند که متوسط سختی دانه برای آن‌ها به ترتیب ۴۸.۰۵ و ۵۱.۹۷ بود (شکل ۳ C1 و C2)، و اختلاف بین آنها از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0.027$).

برای صفت حجم رسوب SDS، تنها آلل gwm608-b3 وارد مدل شد که توانست ۲۳٪ تغییرات را توجیه نماید. در این آلل ۵ ژنوتیپ دارای باند و ۲۰ ژنوتیپ فاقد باند بودند، که متوسط حجم رسوب SDS به ترتیب ۵۶.۴ و ۴۷.۴۵ بود ($p=0.009$).

ریف و همکاران (۲۱) براساس رهیافت نقشه‌یابی ارتباطی، بین صفات وزن هزرادانه، حجم رسوب، محتوی پروتئین دانه و ترکیب نشاسته، مکان‌های صفات کمی با اثرات اصلی را برای این صفات پیدا کردند.

با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان از تنوع آلی موجود در مکان‌های ژنی مورد بررسی جهت تشخیص ارقام و برقراری رابطه فیلوژنتیکی استفاده نمود. همچنین با پیدا کردن رابطه‌ای متقن بین حضور آلل‌های خاص با صفت متأثر کننده کیفیت نانویی می‌توان ژنوتیپ‌های با کیفیت بالا را در مراحل اولیه رشد گیاه از طریق نشانگر انتخاب کرد. بنابراین از ژنوتیپ‌های گندم نان و خویشاوندان آنها که حاوی آلل‌های جدید مرتبط با کیفیت بالا برای میزان کل پروتئین هستند، می‌توان به عنوان منبع با ارزش ژنی در برنامه‌های اصلاحی با هدف بهبود کیفیت محصولات حاصل از گندم بکار برد. هنگام بررسی صفات فنوتیپی در جمعیت مورد مطالعه، جهت جلوگیری از تعجیل در قضاوت و نتیجه‌گیری، دانستن

منابع

- Ahmad, M., W.B Griffin, K.H. Sutton. 1998 Quantification of glutenin and gliadin as a measure of bread baking quality by size exclusion and reverse phase HPLC. Wheat Genetics Symposium, 4: 124-126.
- Brescghello F, M.E. Sorrells 2006. Association Mapping of Kernel Size and Milling Quality in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. Genetics, 172: 1165-1177.
- Carter, B.P., C.F. Morris and J.A. Anderson. 1999. Optimizing the SDS Sedimentation Test for End-Use Quality Selection in a Soft White and Club Wheat Breeding Program. Cereal Chemistry, 76: 907-911.
- Collard, B.C. and D.J. Mackill. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 363: 557-572.

5. Coventry, S.J., A.R. Barr, J.K. Eglinton, G.K. McDonald. 2003. The determinants and genome locations influencing grain weight and size in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Australian Journal of Agricultural Research* 54: 1103-1115.
6. Cox, M.C., C.O. Qualset and D.W. Rains. 1985. Genetic variation for nitrogen assimilation and translocation in wheat III. Nitrogen translocation in relation to grain yield and protein. *Crop Science*, 26: 737-740.
7. Dholakia, B.B., J.S.S. Ammiraju, D.K. Santra, H. Singh, M.V. Katti, M.D. Lagu, S.A. Tamhankar, V.S. Rao, V.S. Gupta, H.S. Dhaliwal and P.K. Ranjekar. 2001. Molecular Marker Analysis of Protein Content Using PCR-Based Markers in Wheat. *Biochemical Genetics*, 39: 325-338.
8. Dholakia, B.B., J.S.S. Ammiraju, H. Singh, M.D. Lagu, M.S. Roder, V.S. Rao, H.S. Dhaliwal, P.K. Ranjekar and V.S. Gupta. 2003. Molecular marker analysis of kernel size and shape in bread wheat. *Plant Breeding*, 122: 392-395.
9. FAO. 2013. FAOSTAT: FAO statistical databases. Available at: <http://faostat.fao.org>.
10. Gebhardt, C., A. Ballvora, B. Walkemeier, P. Oberhagemann and K. Schuler. 2004. Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: a case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Molecular Breeding*, 13: 93-102.
11. Khan, I.A., J.D. Procnier, D.G. Humphreys, G. Tranquilli, A.R. Schlatter, S. Marcucci-Poltri, R. Froberg and J. Dubcovsky. 2000. Development of PCR-Based Markers for a High Grain Protein Content Gene from ssp. Transferred to Bread Wheat. *Crop Science*, 40: 518-524.
12. Licitra, G., T.M. Hernandez and P.J. van-Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Journal of Animals Feed Science Teach*, 57: 347-358.
13. Liu, K. and S.V. Muse. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21: 2128-2129.
14. MacRitchie, F. 1999. Wheat proteins: characterization and role in flour functionality. *Cereal Foods World*, 44: 188-193.
15. Morris, C.F. 2002. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Molecular Biology*, 48: 633-647.
16. Oury, F.X. and C. Godin. 2007. Yield and grain protein concentration in bread wheat: how to use the negative relationship between the two characters to identify favourable genotypes? *Euphytica*, 157: 45-57.
17. Pallotta, M.A., P. Warner, R.L. Fox, H. Kuchel, S.J. Jefferies and P. Langridge. 2003. Marker assisted wheat breeding in the southern region of Australia. *In Proceedings of the Tenth International Wheat Genetics Symposium Paestum, Italy*, pp: 789-791.
18. Payne, R.W., D.B. Baird, M. Cherry, A.R. Gilmour, S.A. Harding, A.F. Kane, P.W. Lane, D.A. Murray, D.M. Soutar, R. Thompson, A.D. Todd, G. Tunnicliffe Wilson, R. Webster and S.J. Welham. 2002. *GenStat*. In, Ed 6.1. VSN International, Wilkinson House, Jordan Hill Road, Oxford, United Kingdom.
19. Prasad, M., N. Kumar, P.L. Kulwal, M.S. Roder, H.S. Balyan, H.S. Dhaliwal and P.K. Gupta. 2003. QTL analysis for grain protein content using SSR markers and validation studies using NILs in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 659-667.
20. Prasad, M., R.K. Varshney, A. Kumar, H.S. Balyan, P.C. Sharma, K.J. Edwards, H. Singh, H.S. Dhaliwal, J.K. Roy and P.K. Gupta. 1999. A microsatellite marker associated with a QTL for grain protein content on chromosome arm 2DL of bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 341-345.
21. Reif, J., M. Gowda, H. Maure, C. Longin, V. Korzun, E. Ebmeyer, R. Bothe, C. Pietsch and T. Würschum. 2011. Association mapping for quality traits in soft winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 122: 961-970.
22. Ribaut, J.M. and D. Hoisington. 1998. Marker-assisted selection: new tools and strategies. *Trends in Plant Science*, 3: 236-239.
23. Shewry, P.R. 2009. Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60: 1537-1553.
24. Simmonds, N.W. 1995. The relation between yield and protein in cereal grain. *J Sci Food Agric*, 67: 309-315.
25. Singh, N.K., K.W. Shepherd, P. Langridge and L.C. Gruen. 1991. Purification and biochemical characterization of triticin, a legumin-like protein in wheat endosperm. *Journal of Cereal Science*, 13: 207-219.
26. Sourdille, P., S. Singh, T. Cadalen, G. Brown-Guedira, G. Gay, L. Qi, B. Gill, P. Dufour, A. Murigneux and M. Bernard. 2004. Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Functional & Integrative Genomics*, 4: 12-25.
27. Wei, Y.M., Y.C. Hou, Z.H. Yan, W. Wu, Z.Q. Zhang, D.C. Liu and Y.L. Zhang. 2005. Microsatellite DNA polymorphism divergence in Chinese wheat landraces highly resistant to fusarium head blight. *Theoretical and Applied Genetics*, 46: 3-9.
28. Zanetti, S., M. Winzeler, C. Feuillet, B. Keller and M. Messmer. 2001. Genetic analysis of bread-making quality in wheat and spelt. *Plant Breeding*, 120: 13-19.

Association between Grain Quality Traits and SSR Molecular Markers in Some Bread Wheat Genotypes

Somayeh Pahlavani¹, Ali Izanloo², Soheil Parsa³ and Mohammad-Ghader Ghaderi³

¹ and ³- M.Sc. Student and Assistant Professor, University of Birjand
²- Assistant Professor, University of Birjand (Corresponding authors: a.izanloo@birjand.ac.ir)
 Received: August 31, 2014 Accepted: January 31, 2015

Abstract

Improvement of bread quality in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) depends on a thorough understanding of the genetic basis of important quality traits. Therefore, this study was conducted to investigate the genetic basis of wheat grain quality traits including kernel length, kernel width, 1000-kernel weight, grain protein content, Zeleni No, bread volume, moisture content, grain hardness, water absorption and SDS sedimentation volume, and to determine the relationship between the phenotypic data with the genotypic data of four SSR markers using marker-trait association approach. A total of 46 polymorphic alleles with an average of 7.66 alleles per locus were amplified. Polymorphic information content (PIC) of the markers ranged from 0.26 to 0.82, where the first locus for *wmc41* (*wmc41-1*) showed the lowest and the second locus of *gwm608* (*gwm608-2*) indicated the highest PIC. Based on stepwise regression analysis, different markers were entered to the model for kernel length, 1000-kernel weight, bread volume, grain hardness and SDS sedimentation volume. However, for grain protein content, kernel width, Zeleni No., moisture content and water absorption no any marker alleles were detected. For kernel length two marker alleles (*gwm608-b5* and *gwm644-b4*), for bread volume two marker alleles (*wmc41-b5* and *gwm644-a1*), for grain hardness two marker alleles (*wmc41-b4* and *wmc41-b2*) were entered to the model. For 1000-kernel weight and SDS sedimentation volume only one marker alleles of *gwm608-b3* and *gwm608-b2* for each were respectively detected, which in general, explained from 22% to 37% of the phenotypic variations. The results showed that those markers with high polymorphic content and high genetic variation play a pivotal role in separation and distinction of genotypes.

Keywords: Bread quality, Microsatellite molecular markers, Storage proteins