دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

ارتباط بین ارتقاء کیفیت نانوایی با کاهش بیان ژن‌های Dx2 و Dy12 در گندم موتانت

حسین احمدی اوچ تپه[۱]، حسن سلطانلو[۲]، سیده ساناز رمضانپور[۳]، احد یامجی[۴] و وحید شریعتی[۵]

۱، ۳ و ۴- دانشجوی دکتری، دانشیار، استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: soltanlooh@gau.ac.ir)
۵- استادیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، گروه زیست فناوری مولکولی گیاهی، کرج
تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۹
صفحه: ۱۲۷ تا ۱۳۲

چکیده

در تحقیق حاضر سطح بیان ژن‌های Dx2 و Dy12 واقع در جایگاه Glu-D1 که رمزکننده زیرواحدهای سنگین گلوتنین با تأثیر منفی بر کیفیت نانوایی می‌باشند، در ژنوتیپ جهش یافته گندم نان بنام RO-3 با کیفیت نانوایی بالا به همراه رقم روشن (رقم والدی آن) با کیفیت نانوایی پایین مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور نمونه‌برداری از بذور در فواصل زمانی ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ روز بعد از گلدهی صورت گرفت. نتایج الگوی بیان ژن نشان داد ژنوتیپ RO-3 برای ژن Dy12 بیشترین کاهش بیان را در ۵ روز بعد از گلدهی نسبت به ژنوتیپ والدی دارد و برای ژن Dx2 بیشترین کاهش بیان در ۱۰ روز بعد از گلدهی نسبت به ژنوتیپ والدی مشاهده شد. به طور کلی در طی مرحله توسعه دانه هر دو ژن مورد مطالعه در ژنوتیپ موتانت نسبت به والد کاهش بیان نشان داد. بیشترین نسبت تجمع وزن خشک دانه در ژنوتیپ جهش یافته در ۱۰ تا ۱۵ روز بعد از گلدهی اتفاق افتاد. بنابراین مراحل ابتدایی توسعه دانه از مراحل بحرانی برای کاهش بیان این دو ژن و تجمع وزن خشک دانه در ژنوتیپ جهش یافته می‌باشد. سرعت پر شدن دانه و حداکثر وزن دانه در ژنوتیپ جهش یافته بیشتر از ژنوتیپ والدی بود. بنابراین اصلاح ارقام با سرعت پر شدن دانه بالاتر و همچنین انتخاب ارقام با بیان پایین ژن‌های Dx2 و Dy12 می‌تواند نقش مهمی در انتخاب ارقام با عملکرد و کیفیت نانوایی بالا داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، توسعه دانه، زیرواحد سنگین گلوتنین، کیفیت نانوایی، گندم، qRT-PCR

مقدمه

گندم اصلی‌ترین محصول غله‌ای است که برای تولید نان استفاده می‌شود و خاصیت پخت آن به علت حضور پروتئین گلوتن است. نوع و مقدار پروتئین‌های گلوتن در تخمین خاصیت پخت نان آرد گندم مهم است (۴). کیفیت گندم تا حدود زیادی به وسیله پروتئین‌های ذخیره‌ای موجود در آندوسپرم دانه تعیین می‌شود. پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم از دسته پرولامین‌ها بوده که به دو دسته گلوتنی و غیرگلوتنی تقسیم می‌شوند (۱۶). گلوتن که در خاصیت کشسانی و چسبندگی خمیر شرکت دارد، با حدود ۸۰ درصد بیشترین مقدار پروتئین ذخیره‌ای گندم را شامل می‌شود. پروتئین‌های گلوتنی گندم به دو دسته گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها تقسیم می‌شوند. گلوتنین از مهم‌ترین پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم و از زیر واحد با وزن مولکولی بالا[۱] و زیر واحد با وزن مولکولی پایین[۲] تشکیل شده است (۲۳). رونوشت گلیادین‌ها، زیر واحدهای سنگین گلوتینین و زیر واحدهای سبک گلوتنین زود تجمع می‌یابند و ناپدید می‌شوند (۲،۳) و مقدار نسبی گلیادین، HMW-GS و LMW-GS متغیر است (۷). زیر واحدهای سنگین گلوتنین می‌توانند به صورت مونومرهای آزاد در مراحل اولیه پر شدن دانه حضور داشته باشند (۹). زیر واحدهای سنگین گلوتنین توسط ژن‌های x و y رمز می‌شوند که جایگاه آنها بر روی بازوی بلند کروموزوم‌های 1A (Glu-A1)، 1B (Glu-B1) و 1D (Glu-B1) قرار دارند (۱۶). در مکان ژنی Glu-D1 جفت آلل‌های Dx5+Dy10 (با تأثیر مثبت در کیفیت نانوایی) قرار دارند که قدرت خمیر بالاتری نسبت به جفت آلل‌های Dx2+Dy12 (با تأثیر منفی در کیفیت نانوایی) دارند و در کیفیت بالای نان نقش دارند (۱۵،۲۹). زمانی و همکاران (۲۹) در تحقیقی نشان دادند که موتانت RO-3 حاصل از پرتوتابی رقم روشن (با رتبه B) به وسیله اشعه گاما، درصد پروتئین بالاتری نسبت به رقم والدی دارد، بنابراین به علت داشتن درصد بالای پروتئین در رتبه A قرار گرفت. ایزدی دربندی و همکاران (۱۱) در تحقیقی به بررسی تنوع آللی در مکان‌های Glu-1 و Glu-3 ارقام ایرانی قدیم و جدید گندم نان پرداختند. نتایج آنها نیز نشان داد که رقم روشن از لحاظ کیفیت نانوائی در رتبه پایین قرار دارد. نجفیان و بقایی (۱۹) تنوع ژنتیکی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در ارقام و لاین‌های گندم بررسی کردند. نتایج تحقیقات آنها نشان داد که رقم روشن از نظر امتیاز زیر واحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا در رتبه آللی ۶ (پایین) قرار دارد و این رقم دارای آلل‌های N در جایگاه Glu-A1، Bx7+By8 در جایگاه Glu-B1 و Dx2+Dy12 در جایگاه Glu-D1 می‌باشند؛ بنابراین از نظر کیفیت این دو رقم ارجحیت نداشتند. آلل‌های زیر واحد سنگین گلوتنین AxNull، Bx6+By8 و Dx2+Dy12 با کیفیت پخت ضعیف نان در ارتباط هستند (۲۰). عوامل موثر بر کیفیت دانه گندم به طور کلی به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی تقسیم‌بندی می‌شوند. ویژگی‌های فیزیکی شامل فرم مخزن دانه، سختی دانه، وزن دانه، اندازه و شکل دانه و ویژگی‌های شیمیایی شامل محتوی پروتئین، کیفیت پروتئین و تست رسوب می‌باشد (۱۷). حق‌پرست و همکاران (۱۰) نشان دادند که در ژنوتیپ 14-GBM گندم نان، بین وزن دانه و شاخص گلوتن همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. بدین صورت که در این ژنوتیپ وزن دانه نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر بالا و در نتیجه درصد پروتئین بالا بود. درک فرآیند پر شدن دانه ممکن است در برنامه‌های اصلاحی گندم برای افزایش عملکرد دانه و تولید ارقام با کیفیت بالا سودمند باشد (۱۸). پر

1- High Molecular Weight (HMW)
2- Low Molecular Weight

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-15]
[DOI: 10.29252/jcb.11.29.127]

شدن دانه (رشد دانه بعد از گرده‌افشانی) به دو عامل سرعت و طول دوره‌ی پر شدن دانه از مواد پرورده که نتیجه آن افزایش وزن خشک دانه است بستگی دارد (۵). اصلاح موتاسیونی روش سریعی برای بهبود محصولات است. صدها موتانت مفید برای صفات مختلف در محصولات مختلف نظیر گندم از طریق القاء جهش‌زایی فیزیکی و شیمیایی ایجاد شده‌اند (۲۵). اصلاح از طریق القای جهش می‌تواند یک یا تعداد بیشتری از این صفات را در گیاهان تغییر دهد، بنابراین می‌تواند نقش مهمی در ایجاد صفات مورد نظر برای اصلاح گیاه ایفا کند (۱۲). امروزه استفاده از پرتوهای رادیواکتیو از جمله پرتو گاما در تحقیقات کشاورزی، استفاده وسیعی یافته و می‌توان به عنوان یک منبع ایجاد تنوع ژنتیکی از آن استفاده کرد (۲۸). براساس آنچه اشاره شد این مطالعه به منظور بررسی الگوی بیان دو ژن Dx2 و Dy12 (با تأثیر منفی در کیفیت نانوایی) در ژنوتیپ گندم موتانت و رقم والدی آن در پنج مرحله مختلف توسعه دانه (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ روز بعد از گلدهی) انجام شد. در بخش دوم این تحقیق پارامترهای مربوط به پر شدن دانه (از جمله سرعت پر شدن دانه، دوره موثر پر شدن دانه، طول دوره پر شدن دانه و حداکثر وزن دانه) محاسبه شد و در نهایت بررسی روابط بین الگوی بیان ژن‌ها و پارامترهای مربوط به پر شدن دانه بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی بیان دو ژن درگیر در کیفیت نانوائی و همچنین اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی سرعت و دوره پر شدن دانه، آزمایشی با یک لاین جهش‌یافته RO-3 (با کیفیت نانوائی بالا) حاصل از برنامه اصلاح موتاسیونی سازمان انرژی اتمی ایران با هدف اولیه افزایش کیفیت نانوایی (با استفاده از پرتوتابی گاما با منشأ کبالت ۶۰) به همراه رقم گندم روشن (با کیفیت نانوائی پایین) به‌عنوان رقم والدی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. برای این منظور بر روی یک خط ۲ متری (یک تکرار) تعداد ۴۰ عدد از بذور هر ژنوتیپ کشت شدند که فاصله خطوط از هم ۳۰ سانتیمتر بود. نمونه‌برداری بذر از ۵ روز بعد از گلدهی[1] در فواصل زمانی ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ روز یک بار برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و ارزیابی بیان ژن انجام شد. تجزیه و تحلیل پارامترهای مربوط به پر شدن دانه با استفاده از یک مدل رگرسیون خطی (دو تکه‌ای) (۲۷) بر اساس رویه DUD و دستورالعمل Proc Nlin نرم‌افزار SAS 9.00 انجام گرفت.

استخراج RNA و سنتز cDNA

به منظور بررسی بیان ژن، RNA کل از بذور همسان و سالم هر یک از ژنوتیپ‌ها در پنج مرحله مورد مطالعه، استخراج گردید. استخراج RNA با استفاده از بافر پی‌بایوزول (p-Biozol Buffer) و بر اساس دستورالعمل شرکت بیوفلاکس (BioFlux, Japan) انجام شد (۱۳). به‌منظور ارزیابی کمیت و کیفیت RNA استخراجی از دو روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ نانومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. برای بررسی کمی میزان RNA استخراج شده از دستگاه نانوفتومتر مدل p300 (شرکت IPMLEN) استفاده شد. در مرحله بعد بر اساس روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز با تیمار دئوکسی ریبونوکلئازی توسط آنزیم DNaseI، DNA ژنومی از RNA استخراج شده حذف گردید. برای این منظور ۲ میکروگرم از محلول RNA کل، یک میکرولیتر بافر DNaseI (10x)، یک واحد (U) آنزیم DNaseI به درون یک تیوب ۰/۲ میلی‌لیتری اضافه شد و به‌وسیله آب DEPS به حجم ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس تیوب حاوی مواد به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از حذف DNA مقدار یک میکرولیتر EDTA با غلظت ۲۵ میلی‌مولار به تیوب‌ها اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

ساخت cDNA بر طبق پروتکل پیشنهادی شرکت فرمنتاز انجام گرفت (۱۳). برای این منظور مقدار پنج میکرولیتر از RNA مرحله قبل و یک میکرولیتر آغازگر Oligo dT18 (با غلظت ۰/۵ میکرو گرم) به درون یک تیوب ۰/۲ میلی‌لیتری اضافه شد سپس به وسیله آب DEPS به حجم ۱۱ میکرولیتر رسانده شد. سپس تیوب حاوی مواد به مدت ۵ دقیقه در انکوباتور با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. مخلوط واکنش لازم برای مرحله رونویسی معکوس به صورت ترکیب (۴ میکرولیتر بافر واکنش 5x، ۲ میکرولیتر dNTP (۱۰ میکرومولار)، ۰/۵ میکرولیتر Ribolok RNase inhibitor، یک میکرولیتر آنزیم رونوشت‌بردار معکوس) به تیوب حاوی ۱۱ میکرولیتر مواد اضافه شد و حجم آن به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. تیوب حاوی مواد به مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در نهایت به منظور توقف واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس cDNAهای سنتز شده ۲۰ برابر رقیق شدند و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

طراحی آغازگر و واکنش کمی چرخه‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی (qRT-PCR)

به‌منظور طراحی آغازگرها ابتدا توالی ژن‌های Dx2، Dy12 و ژن خانه‌دار اکتین (AB181991.1) از بانک اطلاعاتی NCBI گرفته شد و سپس با استفاده از نرم‌افزار پرایمر ۳ (v. 0.4.0) آغازگرهای موردنظر با در نظر گرفتن ویژگی‌های مطلوب برای استفاده در روش واکنش چرخه‌ای پلی‌مراز کمی در زمان واقعی طراحی شدند (جدول ۱). در تحقیق حاضر برای بررسی بیان ژن‌ها از دستگاه iQ5 (شرکت Bio-Rad، آمریکا) و تکنولوژی رنگ SYBR Green (کیت سایبر بیوپارس، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان) استفاده گردید. میزان افزایش یا کاهش بیان ژن ژنوتیپ‌های موتانت نسبت به والد به صورت نسبی با استفاده از روش پفافل $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (۲۱) و نرم‌افزار REST (۲۲) انجام شد. نمودارهای مربوط به داده‌های qRT-PCR در محیط Excel رسم شدند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-15]

[DOI: 10.29252/jcb.11.29.127]

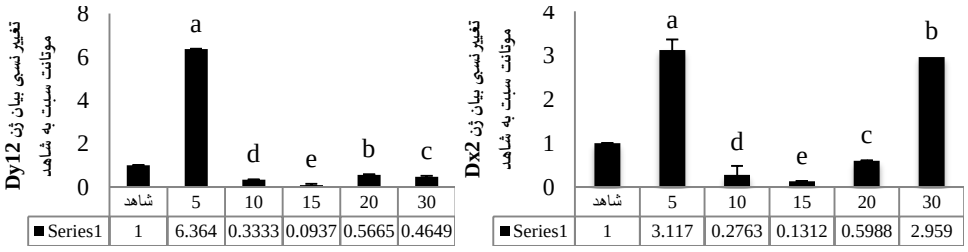
جدول ۱- مشخصات ژن‌های آغازگرهای هدف و مرجع

Table 1. Characteristic of target and reference gene primers

آغازگر	ژن	شماره دسترسی		توالی آغازگر	TM (°Cd)	طول قطعه تکثیر (bp)
TaDy12	Dy12	BK006459.1	پیش رو	5′-GGCACTACCCAGCTTCTCTG-3′	۶۰/۰۱	۱۸۲
			پس رو	5′-GTACCCTTGTTGCCCTTGTC-3′	۵۹/۴۵	
Ta.Dx2	Dx2	BK006460.1	پیش رو	5′-CCGCAGGAGTCAGGACAA-3′	۶۰/۹۹	۱۰۹
			پس رو	5′-GCTGCAACGGAGAAGTTAGG-3′	۶۰/۰۲	
Ta. Actin	Actin	AB181991.1	پیش رو	5′-AAGAGTCGGTGAAGGGGACT-3′	۶۰/۱۸	۱۹۱
			پس رو	5′-TTCATACAGCAGGCAAGCAC-3′	۵۸/۸۳	

نتایج و بحث

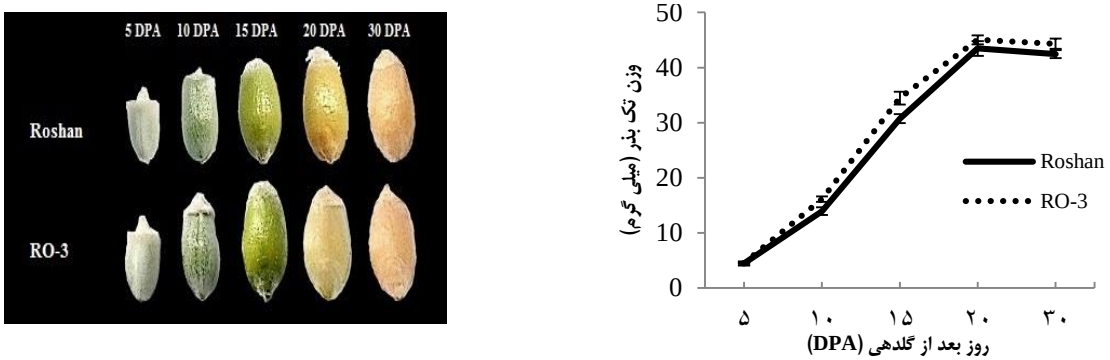
مقایسه الگوی بیان ژن‌های Dy12 و Dx2 موتانت نسبت به والد در بازه‌های زمانی یکسان در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، روند بیان این ژن‌ها در بازه‌های زمانی مختلف توسعه دانه، در ژنوتیپ موتانت نسبت به والد متفاوت بود (شکل ۱). نتایج الگوی بیان ژن Dx2 در ژنوتیپ RO-3 نسبت به ژنوتیپ والدی (رقم روشن) در طی مراحل ۵، ۱۵ و ۳۰ روز بعد از گلدهی افزایش بیان ژن و برای مراحل ۱۰ و ۲۰ روز بعد از گلدهی کاهش بیان ژن را نشان داد. در این ژنوتیپ بیشترین میزان کاهش بیان ژن (۱۱/۰۰۴ برابر کاهش بیان نسبت به روشن) در ۱۰ روز بعد از گلدهی مشاهده شده است (شکل ۱-الف). الگوی تظاهر ژن Dy12 در ژنوتیپ RO-3 نسبت به رقم روشن در تمام مراحل مورد مطالعه (به غیر از مرحله ۱۵ روز بعد از گلدهی) کاهش بیان نشان داد؛ به طوریکه بیشترین میزان کاهش بیان ژن (۲/۱۷۳ برابر کاهش بیان نسبت به رقم روشن) در ۵ روز بعد از گلدهی مشاهده گردید (شکل ۱- ب).



شکل ۱- مقایسه میزان بیان ژن‌های Dx2 (راست) و Dy12 (چپ) ژنوتیپ موتانت RO-3 نسبت به روشن (والد، شاهد)

Figure 1. Comparison of genes expression for Dx2 (a) and Dy12 (b) RO-3 mutant genotype than Roshan (parent, control)

بیشترین نسبت تجمع وزن خشک دانه (میلی‌گرم بر روز) برای هر دو ژنوتیپ در فاصله زمانی ۱۰ تا ۱۵ روز بعد از گلدهی مشاهده شد. همچنین کمترین تجمع وزن خشک دانه برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در بازه زمانی ۲۰ تا ۳۰ روز بعد از گلدهی حاصل شد (شکل ۲).



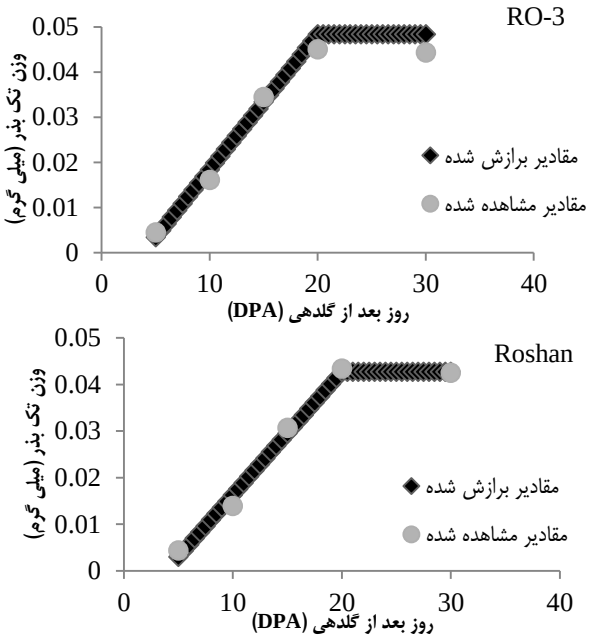
شکل ۲- وزن خشک دانه (راست) و مراحل توسعه مورفولوژیکی دانه (چپ) در ژنوتیپ والدی و موتانت در فواصل زمانی ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ روز بعد از گلدهی

Figure 2. Seed dry weight (right) and morphological stages of seed development (left) in parent and mutant genotype at intervals of 5, 10, 15, 20 and 30 days post-anthesis (DPA)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-15]

[DOI: 10.29252/jcb.11.29.127]

روند تغییرات سرعت و طول دوره پر شدن دانه به‌وسیله مدل رگرسیون خطی بدست آمد و با استفاده از داده‌های مشاهده شده و داده‌های برازش شده نمودارهای مربوطه ترسیم شد (شکل ۳). بررسی روند تغییرات سرعت پر شدن دانه نشان داد که الگوی نمو بذر در هر دو ژنوتیپ مشابه بود. بدین ترتیب که ابتدا وزن دانه به صورت خطی افزایش یافت و به حداکثر خود رسید (رسیدگی وزنی)، پس از این مرحله، وزن دانه از تغییرات چندانی برخوردار نبود و به صورت یک خط افقی در آمد.



شکل ۳- روند تغییرات سرعت و طول دوره پر شدن دانه در ژنوتیپ والدی و موتانت
Figure 3. Grain filling rate and duration of grain filling in parent and mutant genotypes

دوره مؤثر پر شدن دانه از طریق تقسیم حداکثر وزن دانه به سرعت پر شدن دانه محاسبه شد (۸،۲۷). صفات طول دوره پر شدن دانه و دوره مؤثر پر شدن دانه در رقم روشن بیشتر از ژنوتیپ RO-3 بود. همچنین صفات سرعت پر شدن دانه و حداکثر وزن دانه در ژنوتیپ جهش یافته نسبت به ژنوتیپ والدی بیشتر بود. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص گردید که بین دو ژنوتیپ از نظر سرعت پر شدن دانه، دوره مؤثر پر شدن دانه، حداکثر وزن دانه و طول دوره پر شدن دانه تفاوت‌های وجود دارد. به عبارتی نتایج مؤید این است که شیب خط برازش شده برای دو ژنوتیپ یکسان نیست (جدول ۲).

جدول ۲- سرعت پر شدن دانه، دوره مؤثر پرشدن دانه، طول دوره پر شدن دانه و حداکثر وزن دانه در ژنوتیپ والدی و موتانت
Table 2. Grain filling rate, effective grain filling period, during grain filling period and the maximum weight of seed parent and mutant genotypes

ژنوتیپ	سرعت پر شدن دانه (گرم در روز)	دوره مؤثر پر شدن دانه (روز)	طول دوره پرشدن دانه (روز)	حداکثر وزن دانه (گرم)	معادله برازش شده
روشن	۰/۰۰۲۶۵	۱۶/۴۶۱۵۱	۲۴/۹۸۸	۰/۰۴۳۶۲	Y= -0.01023 + 0.00265X
RO-3	۰/۰۰۲۹۹	۱۵/۰۶۵۰۶	۲۳/۸۰۸	۰/۰۴۵۱۵	Y= -0.0116 + 0.002997X

کاهش بیان ژن‌های Dx2 و Dy12 سبب افزایش قابل توجهی در قدرت خمیر و بالطبع کیفیت نان می‌شود (۱۵). نتایج این مطالعه نیز نشان می‌دهد که ژنوتیپ موتانت با کاهش بیان ژن‌های Dx2 و Dy12 سعی در افزایش کیفیت نانوایی دارد بنابراین نسبت به رقم والدی خود ارجحیت دارد. در ژنوتیپ RO-3 میزان بیان هر دو ژن Dx2 و Dy12 نسبت به والد (روشن) در زمان‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز بعد از گلدهی کاهش نشان داد. برای ژن Dy12 بیشترین کاهش بیان در ۵ روز بعد از گلدهی مشاهده شد و برای ژن Dx2 بیشترین کاهش بیان در ۱۰ روز بعد از گلدهی مشاهده شد. از طرفی در این ژنوتیپ بیشترین نسبت تجمع وزن خشک دانه در فاصله زمانی ۱۰ تا ۱۵ روز بعد از گلدهی مشاهده شد. بنابراین برای ژنوتیپ RO-3 مراحل اولیه توسعه دانه (۵ تا ۱۰ روز بعد از گلدهی) برای کاهش بیان ژن بحرانی‌تر

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-15]
[DOI: 10.29252/jcb.11.29.127]

می‌باشد. به طور کلی در طی پنج مرحله توسعه دانه، ژن Dx2 در رقم موتانت نسبت به روشن به مقدار ۷/۱۵۹ کاهش بیان نشان داد؛ همچنین ژن Dy12 در رقم موتانت نسبت به والد به مقدار ۵/۹۳۱ برابر کاهش بیان نشان داد. اثر منفی Dx2+Dy12 بر کیفیت نان توسط سایر محققین گزارش شده است (۱،۲۴،۶) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. کوماری و والارماسی (۱۴) در مطالعه‌ای نشان دادند که دانه‌های با وزن بالاتر، از سرعت پر شدن بالاتری نسبت به دانه‌های با وزن کم‌تر برخوردار می‌باشند. در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد که حداکثر وزن دانه ژنوتیپ RO-3 بیشتر از رقم والدی بود؛ بنابراین ژنوتیپ جهش یافته سرعت پر شدن دانه بالاتری نسبت به رقم والدی داشت. برای ژنوتیپ RO-3 سرعت پر شدن دانه ۰/۰۰۰۳۴۷ گرم (۱۱/۵۸ درصد) در روز بیشتر از رقم روشن بود. بنابراین اصلاح ارقام با سرعت پر شدن دانه بیشتر (به عنوان یک فاکتور فرار از تنش حرارتی آخر فصل) و همچنین انتخاب ارقام با بیان پایین ژن‌های Dx2 و Dy12 می‌تواند نقش مهمی در انتخاب ارقام با عملکرد بالا و کیفیت نانوائی بالا داشته باشد. همچنین داشتن آگاهی از وضعیت زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در ارقام موتانت حاصل از پرتوتابی و انتخاب ژنوتیپ‌های موتانت واجد زیرواحدهای موردنظر جهت برنامه‌های به‌نژادی گندم، اصلاح‌گران را جهت بدست آوردن ارقام با کیفیت نانوایی بالا و زیر کشت بردن آن‌ها به جای ارقام والدی کمک می‌کند.

بر اساس تحقیقات گسترده دانشمندان نقش زیر واحدهای سنگین گلوتنین مشخص شده است. در این میان زیر واحدهای Dx2 و Dy12 تأثیر منفی بر کیفیت نانوائی دارند. به‌طور کلی با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق و سایر تحقیقات انجام شده اصلاح ارقام برای عدم داشتن زیر واحدهای Dx2 و Dy12 در بهبود کیفیت آرد و نان گندم مفید می‌باشد.

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. Altenbach, S.B and K.M. Kothari. 2004. Transcript profiles of genes expressed in endosperm tissue are altered by high temperature during wheat grain development. Journal of Cereal Science, 40: 115-126.
3. Altenbach, S.B., K.M. Kothari and D. Lieu. 2002. Environmental conditions during wheat grain development alter temporal regulation of major gluten protein genes. Cereal Chemistry, 79: 279-285.
4. Barak, S., D. Mudgil and B.S. Khatkar. 2013. Relationship of gliadin and glutenin proteins with dough rheology, flour pasting and bread making performance of wheat varieties. LWT - Food Science and Technology, 51: 211-217.
5. Brdar, M.D., M.K.B. Marija and D. Borislav. 2008. The parameters of grain filling and yield components in common wheat (*Triticum aestivum* L.) and durum wheat (*Triticum turgidum* L. Var.*Durum*.) Central European Journal of Biology, 3(1): 75-82.
6. Campos, H., J. Zuniga, P. Rathgeb and C. Jobet. 2004. Selection of Chilean wheat genotypes carriers of the HMW glutenin allele Glu-D1 x5 through polymerase chain reaction. Agricultura Técnica, 64: 223-228.
7. Dupont, F.M., W.J. Hurkman, W.H. Vensel, C. Tanaka, K.M. Kothari, O.K. Chung and S.B. Altenbach. 2006. Protein accumulation and composition in wheat grains: effects of mineral nutrients and high temperature. European Journal of Agronomy, 25: 96-107.
8. Ellis, R.H and C. Pieta-Filho. 1992. The development of seed quality in spring and winter cultivars of barley and wheat. Seed Science Research, 2: 19-25.
9. Ferreira, M.S.L., J. Bonicel, N.N. Rosa, M.F. Samson and M.H. Morel. 2009. How is gluten polymers assembled during grain filling in durum wheat? Proceedings of the 10th International Gluten workshop, 29-33.
10. Hghparast, R., R. Rajabi, G. Najafiyan, K. Rashmekarim and M. Aghayi Sarbarzeh. 2009. Evaluation of Indices Related to Grain Quality in Advanced Bread Wheat Genotypes under Rainfed Conditions. Seed and Plant Improvement Journal, 25(2): 315-328 (In Persian).
11. Izadi-Darbandi, A., B. Yazdi-Samadi, A.A. Shanejat-Boushehri and M. Mohammadi. 2010. Allelic variations in Glu-1 and Glu-3 loci of historical and modern Iranian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Journal of Genetics, 89(2): 193-199.
12. Karataş, D.D., B. Kunter, G. Coppola and R. Velasco. 2010. Analysis of polymorphism based on SSCP markers in gamma-irradiated (Co60) grape (*Vitis vinifera*) varieties. Genetics and Molecular Research, 9(4): 2357-2363.
13. Kiani, D., H. Soltanloo, S.S. Ramezanpour, A.A. Nasrolahnezhad Qumi, A. Yamchi, K. Zaynali Nezhad and E. Tavakol. 2017. A barley mutant with improved salt tolerance through ion homeostasis and ROS scavenging under salt stress. Acta Physiol Plant, 39(90): 1-14.
14. Kumari, S.L and G. Valarmathi. 1998. Relationship between grain yield grain filling rate and duration of grain filling in rice. Madras Agricultural Journal, 85: 210-211.
15. Lei, Z.S., K.R. Gale, Z.H. He, C. Gianibelli, O. Larroque, X.C. Xia, B.J. Butow and W. Ma. 2006. Y-type gene specific markers for enhanced discrimination of high-molecular weight glutenin alleles at the Glu-B1 locus in hexaploid wheat. The Journal of Cereal Science, 43: 94-101.
16. Liu, S., X. Gao and G. Xia. 2009. Characterizing HMW-GS alleles of decaploid *Agropyron elongatum* in relation to evolution and wheat breeding. Theoretical and Applied Genetics, 116: 325-334.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-15]

[DOI: 10.29252/jcb.11.29.127]

17. Md Zaidul, I.S., A. Abd Karim, D.M.A. Manan, A. Ariffin, N.A. Nik Norulaini and A.K. Mohd Omar. 2004. farinograph study on the viscoelastic properties of sago/wheat flour dough systems. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84: 616-622.
18. Moradi, M., and M. Motamedi. 2010. Speed and duration of grain filling in some wheat cultivars. Quarterly Journal of Plant Production Science (Journal of Agricultural), 4: 37-43 (In Persian).
19. Najafiyan, G., and N. Baghayi. 2011. Genetic Variation in High Molecular Weight Glutenin Subunits in Parental Lines and Cultivars of Wheat Used in Breeding Programs of Cold and Temperate Agro - Climatic Zones of Iran. Seed and Plant Improvement Journal, 27(3): 305-322 (In Persian).
20. Payne P.I., M.A. Nigtingale, A.F. Krattiger and L.M. Holt. 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 40: 51-65.
21. Pfaffl, M.W., 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research, 29: 2002-2007.
22. Pfaffl, M.W., G.W. Horgan and L. Dempfle. 2002. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real time PCR. Nucleic Acids Research, 30: 36-46.
23. Sarkar, S., A.M. Singh, A.K. Ahlawat, M. Chakraborti and S.K. Singh. 2015. Genetic diversity of bread wheat genotypes based on High Molecular Weight Glutenin Subunit profiling and its relation to bread making quality. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 24(2): 218-224.
24. Shewry P.R., N.G. Halford and A.S. Tatham. 1992. High-molecular weight subunits of wheat glutenin subunits of wheat glutenin. Journal of Cereal Science, 5: 105-120.
25. Singh, N.K. and H.S. Balyan. 2009. Induced mutations in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) CV. 'Kharchia 65' for reduced plant height and improves grain quality traits. Advances in Biological Research, 3(5-6): 215-221.
26. Tabiki T., S. Ikeguschi and T.M. Ikeda. 2006. Effects of High-molecular-weight and Low-molecular-weight glutenin subunit alleles on common wheat flour quality. Breeding Science, 56: 131-136.
27. Van Sanford, D.A. 1985. Variation in kernel growth characters among soft red winter wheat. Crop Science, 25: 625-630.
28. Zamani, M.J., M.R. Bihamta, B. Naseriyan Khiyabani and M.T. Halajiyan. 2007. Selection of bread wheat mutant genotypes carrying HMW glutenin alleles related to baking quality through sequence tagged site. Journal of Agronomy and Plant Breeding, 1(3): 63-71 (In Persian).
29. Zamani, M.J., M.R. Bihamta, B. Naserian Khiabani, Z. Tahernezhad, M.T. Hallajian and M. Varasteh Shamsi. 2014. Marker-Assisted Selection for Recognizing Wheat Mutant Genotypes Carrying HMW Glutenin Alleles Related to Baking Quality. The Scientific World Journal, Article ID 387912, 5 pp.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-15]

[DOI: 10.29252/jcb.11.29.127]

Relationship between Improvement of the Baking Quality and Down-Regulation of Dx2 and Dy12 Genes in Mutant Bread Wheat

Hossein Ahmadi-Ochtapeh[1], Hassan Soltanloo[2], Sayedeh Sanaz Ramezanpour[3], Ahad Yamchi[4] and Vahid Shariati[5]

1, 3 and 4- Ph.D. Student, Associate Professor, Assistant Professor Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (GUASNR), Iran
2- Associate Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (GUASNR), Iran, (Corresponding Author: soltanlooh@gau.ac.ir)
5. Assistant Professor in National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, department of plant molecular biotechnology, Karaj
Received: June 14, 2017 Accepted: September 10, 2017

Abstract

In current research, the expression level of Dx2 and Dy12 genes on Glu-D1 locus that encoding the high-molecular-weight glutenin subunits (HMW-GSs), with negative impact on quality of bakery in genotype mutant bread wheat called RO-3 with high quality of bakery and its parent (Roshan) with low quality of bakery was investigated. For this purpose, sampling was performed grains at intervals of 5, 10, 15, 20 and 30 days post-anthesis (DPA). The gene expression results showed that RO-3 genotype had the highest gene expression decreasing for Dy12 genes at 5 DPA compared to parental genotype, and for Dx2 gene the highest gene expression decreasing was 10 DPA compared to parental genotype. Generally, during seed development both genes in mutant genotype had gene expression decreasing than the parental genotype. The most dry weight accumulation rates occurred in 10 to 15 DPA in mutant genotype. So, the early stages of seed development for reducing the expression of these genes and rates dry weight accumulation is critical in mutant genotype. The grain-filling rate and the maximum grain weight were higher in mutant genotype than the parental genotype. Therefore breeding the cultivars with higher grain filling rate and also selection of varieties with low expression for Dx2 and Dy12 genes play important role in the selection of varieties with high yield and quality of bakery.

Keywords: Gene expression, Glutenin heavy subunit, QRT-PCR, Quality of bakery, Seed development, Wheat

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-15]

[DOI: 10.29252/jcb.11.29.127]