دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

# انتخاب به کمک نشانگر برای ارزش نانوایی در نسل‌های در حال تفرق گندم نان

**الهام مهرآذر[۱]، علی ایزدی دربندی[۲]، محسن محمدی[۳] و گودرز نجفیان[۴]**

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، (نویسنده مسوول: elhammehrazar@ymail.com)
۲- استادیار، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران
۳ و ۴- استادیار و دانشیار، موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۳۱

**چکیده**

**نشانگرهای مولکولی ابزاری برای به‌نژادی، غربالگری و تعیین خصوصیات ژنتیکی ژنوتیپ‌ها می‌باشند. در گیاهان زراعی گزینش به‌کمک نشانگرهای مولکولی برای صفات مرتبط با کیفیت محصول و مقاومت به آفات و بیماری‌ها گسترش یافته است. در این مطالعه غربال ۴۰ نتاج نسل $F_2$ از تلاقی‌های (M-83-17/3/Dove"S"/Buc"S"//2*Darab/4/Pishtaz/3/Ww33/Vee"S"//Niknejad) اقلیم معتدل کشور با نشانگرهای جایگاه نشانمند از توالی (STS) با توان تشخیص آلل‌های *۲، ۱۸+۱۷ و ۱۰+۵ در مکان‌های ژنی Glu-1 که بیشترین اثر را در افزایش کیفیت گلوتن دارا می‌باشند، صورت گرفت و از بین ۴۰ نتاج جامعه $F_2$ تعداد ۱۲ نتاج واجد هر سه آلل برتر در نسل $F_3$ در مزرعه تحقیقاتی کشت شدند. از میان ۱۲ نتاج نسل $F_3$، شش نتاج با ده نمونه از هر جمعیت با بهترین خصوصیات ظاهری و صفات مورفولوژیکی انتخاب و با استفاده از نشانگرهای اختصاصی افراد برتر به نسل $F_4$ انتقال یافتند. نتایج حاصل از نشانگرهای مولکولی در نسل $F_2$ با نتایج حاصل از آزمون ارتفاع رسوب SDS هماهنگی داشت و آلل‌های *۲، ۱۸+۱۷ و ۱۰+۵ همبستگی مثبت و معنی‌داری را با ارتفاع رسوب داشتند. تجزیه خوشه‌ای با الگوریتم بین‌گروهی، نتاج را بر اساس آلل‌های پر کیفیت به پنج گروه با ترکیبات متفاوتی از هر یک از سه آلل نامبرده و بر اساس حجم رسوب SDS به سه گروه با حجم رسوب SDS بالا، متوسط و پایین تفکیک نمود.**

**واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، جایگاه‌های نشانمند از توالی (STS)، سدیم دودسیل سولفات (SDS)، گلوتنین، همبستگی**

**مقدمه**

نشانگرهای مولکولی به واسطه اینکه می‌توانند سهم بسزائی در شناسائی و انتخاب دقیق ژرم‌پلاسم و نتاج حاصل از تلاقی‌ها داشته باشند از جمله ابزارهای بسیار مهم به‌نژادی گیاهان زراعی بشمار می‌روند. انتخاب به کمک نشانگر[۱] برای صفات مرتبط با کیفیت و مقاومت به آفات و بیماری‌های گیاهی در برخی گیاهان زراعی و به‌خصوص گندم مطرح شده است، زیرا نشانگرهای DNA با کارآمدی

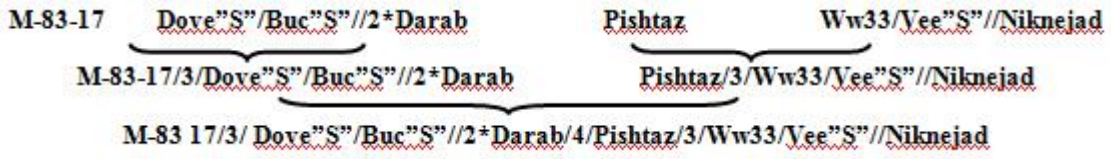
1- Marker-Assisted Selection (MAS)

بسیار بهتر و در زمان کمتر راندمان انتخاب صفات زراعی مهم را در برنامه‌های اصلاحی افزایش داده و تنوع آللی را در بین رقم‌های مختلف بررسی می‌نماید (۱۸). پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم باعث خاصیت کشسانی و چسبندگی خمیر می‌شوند که به دو دسته گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها تقسیم می‌شوند (۲۲،۱). گلوتنین‌ها به لحاظ وزن مولکولی به دو گروه زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-Gs) و پایین (LMW-Gs) تقسیم می‌شوند. گلوتنین با وزن مولکولی بالا توسط ژن‌های واقع در مکان‌های *Glu-D1*، *Glu-B1* و *Glu-A1* به ترتیب روی بازوی بلند کروموزوم‌های 1D، 1B و 1A قرار دارند رمز می‌شوند (۱۵،۶،۵). آلل‌های هریک از این مکان‌های ژنی ارزش و امتیاز کیفی خاصی در بهبود کیفیت نهایی دارد. به نحوی که آلل‌های ۲*، ۱۸+۱۷ و ۱۰+۵ بیشترین امتیاز و بالاترین کیفیت را در بین مکان‌های ژنی هم‌گروه خود دارند (۴،۳). انتخاب به کمک نشانگر برای HMW-Gs ابزار با ارزشی هستند زیرا که اطلاعات درباره کیفیت تهیه نان در اولین مراحل اصلاح بدست آمده و مانع از رواج لاین‌ها با کیفیت ضعیف می‌شود (۸). کیفیت جابه‌جایی[1] گندم چاودار در فرم‌های 1AL/1RS، 1BL/1RS و 1DL/1RS از دیگر فاکتورهای موثر در کیفیت گندم می‌باشند. این جابه‌جایی حامل ژن‌های دارای سازگاری بالا بوده ولی بعضا" پیوستگی زیادی با کاهش خواص کیفیت گندم دارد از جمله حجم رسوب کم، چسبندگی کم خمیر و کاهش استحکام خمیر که عدم حضور این ژن باعث افزایش کیفیت بالای گندم می‌شود (۲۱،۲۰). این مطالعه با هدف بکارگیری نشانگرهای اختصاصی برای تشخیص حضور و یا عدم حضور آلل‌های برتر ۲*، ۱۸+۱۷ و ۱۰+۵ در نتاج هتروزیگوت نسل $F_2$ و انتخاب نتاج دارای هر سه آلل به‌عنوان افراد نسل $F_3$ و بررسی همبستگی و گروهبندی نتاج انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

تعداد ۴۰ نمونه از نتاج جمعیت $F_2$ در مرحله رشدی ابتدای خوشه‌دهی از مزرعه انتخاب و با اتیکت شماره‌گذاری گردیدند که ۴ والد پارسی، پیشتاز، M-83-17 و M-84-14 برای ایجاد تلاقی مربوطه مورد بررسی قرار گرفتند (شکل۱).




شکل ۱- مشخصات پدیگری جمعیت $F_2$ در حال تفکیک

1- Translocation

در این تحقیق تشخیص حضور و یا عدم حضور آلل‌های *۲، ۱۸+۱۷ و ۱۰+۵ برای نتاج هتروزیگوت نسل $F_2$ در مرحله گیاهچه‌ای انجام گرفت و نتاج $F_2$ در مزرعه با اتیکت نشاندار و پس از تعیین محتوای ژنتیکی نتایج حاصل از آزمایشگاه به مزرعه برگردانده شده و سپس این بار روی اتیکت محتوای ژنتیکی آنها درج گردید تا در مرحله انتخاب نهایی بتوان با اتکا به تجربیات اصلاحی و مورفولوژیکی و بر اساس محتوای ژنتیکی درج شده روی اتیکت به طور هدفمند پایه‌های مطلوب خود را انتخاب نمود. در این آزمایش، ۴۰ پایه $F_2$ برای تعیین محتوای ژنتیکی بوسیله مارکرهای DNA بر مبنای PCR[1] کاندیدا شدند. نتاج برگزیده $F_3$ از میان نتاج برگزیده $F_2$ انتخاب و به منظور بررسی‌های بیشتر و تولید ارقام با کیفیت نانوایی بالا به نسل $F_4$ منتقل شدند. استخراج DNA از برگ‌های نمونه‌گیری شده در مرحله گیاهچه‌ای به روش CTAB[2] انجام گرفت (۱۰). همچنین شناسایی همزمان منابع متفاوتی از جابه‌جایی گندم چاودار (1BL.RS و 1AL.RS) و انتخاب نتاجی که واجد هر سه آلل و فاقد آلل‌های جابه‌جا شده با 1RS باشند انجام شد و به منظور تائیدی بر نتایج حاصل از نشانگرها و تشخیص نتاج با کیفیت از آزمون ارتفاع رسوب SDS[3] استفاده شد زیرا حجم رسوب SDS که از صفات مهم در ارزیابی‌های کیفی است نقش مهمی در قدرت گلوتن داشته و با کیفیت پروتئین مرتبط می‌باشد. ارقامی که حجم رسوب بالا دارند از نظر کیفیت نانوایی مطلوب بوده و دارای استحکام گلوتن بیشتر می‌باشند و می‌توان بدون توجه به عملکرد دانه، در پیش‌بینی بهبود کیفیت نانوایی از آنها استفاده نمود (۱۳). این روش برای اولین بار در برنامه به‌نژادی گندم ایران در بخش تحقیقات غلات برای بهبود کیفیت نانوایی انجام شده است. همچنین ضریب همبستگی پیرسون برای بررسی همبستگی بین آلل‌های برتر مکان ژنی *Glu-1* و صفت ارتفاع رسوب با استفاده از نرم‌افزار SAS ver 0.9 و گروهبندی نتاج بر اساس آزمون ارتفاع رسوب SDS و توزیع آلل‌های برتر مکان ژنی *Glu-1* به روش بین‌گروهی[4] با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

**نشانگرهای مولکولی و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز PCR**

آزمون ژنتیکی حضور آلل‌های 1Dx5 در مکان ژنی *Glu-D1* (۱۹) و 1Bx17 در مکان ژنی *Glu-B1* و آلل *1Ax2 در مکان ژنی *Glu-A1* (۹) و جابه‌جایی گندم چاودار 1BL.1RS و 1AL.1RS (۱۶) بررسی گردید. مشخصات آغازگرهای PCR آن‌ها به شرح (جدول ۱) می‌باشد. آزمون ارتفاع رسوب SDS با توجه به روش کوئیک و دانلی (۱۳) انجام شد. آغازگرهای اختصاصی از نوع نشانگرهای جایگاه نشانمند از توالی (STS) که برای تعیین حضور آلل‌های *۲ ، ۱۸+۱۷ و ۱۰+۵ استفاده شده در ۳۵ چرخه انجام شد که برنامه چرخه‌های حرارتی به صورت واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴C° به مدت ۴ دقیقه، واسرشت‌سازی در ۹۴C° به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال آغازگرها ۵۸C° - ۵۱C° به مدت ۴۵ ثانیه، دمای بسط آغازگرها نیز در تمام چرخه‌ها ۷۲C° به مدت ۹۰ ثانیه انجام گردید

1- Polymerase Chain Reaction
2- Hexadecyl trimethyl-amoniumbromide
3- Sodium Dodecyl Sulf
4- Between Groups

و بسط نهایی با دمای $72^{\circ}C$ به مدت ۱۰ دقیقه تعریف گردید. آغازگری که جابه‌جایی گندم چاودار را مورد بررسی قرار می‌دهد با شرایط PCR تاچداون[1] اجرا شد که دمای واسرشت‌سازی در این واکنش $94^{\circ}C$ انتخاب گردید که در چرخه اول به مدت ۳ دقیقه و در سایر چرخه‌ها به مدت ۴۵ ثانیه بود. که دمای ذوب این آغازگر $60^{\circ}C$ می‌باشد و در این روش PCR تاچداون دمای اتصال آغازگرها $65^{\circ}C$ برای ۴۰ ثانیه آغاز شد و سپس طی ۱۵ چرخه، در هر چرخه این دما به اندازه $10^{\circ}C$ کاهش یافت تا در سیکل پانزدهم، بتدریج دمای اتصال به $50^{\circ}C$ رسید و در سایر چرخه‌ها در همین دما ثابت ماند و دمای بسط آغازگرها در تمام چرخه‌ها $72^{\circ}C$ به مدت ۴۰ ثانیه در نظر گرفته شد. دمای بسط نهایی $72^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه انجام گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، که حاوی ۱ واحد Taq DNA پلیمراز، ۲/۵ میلی‌مولار از هر $MgCl_2$ ۵۰ میلی‌مولار، 1x بافر از هر بافر PCR (10x)، ۵۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۲ میلی‌مولار از هر dNTP ۵۰ میلی‌مولار و ۰/۴ پیکومول از هر آغازگر (۱۰ پیکومول) انجام و محصول حاصل از PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد ارزیابی شدند.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای اختصاصی

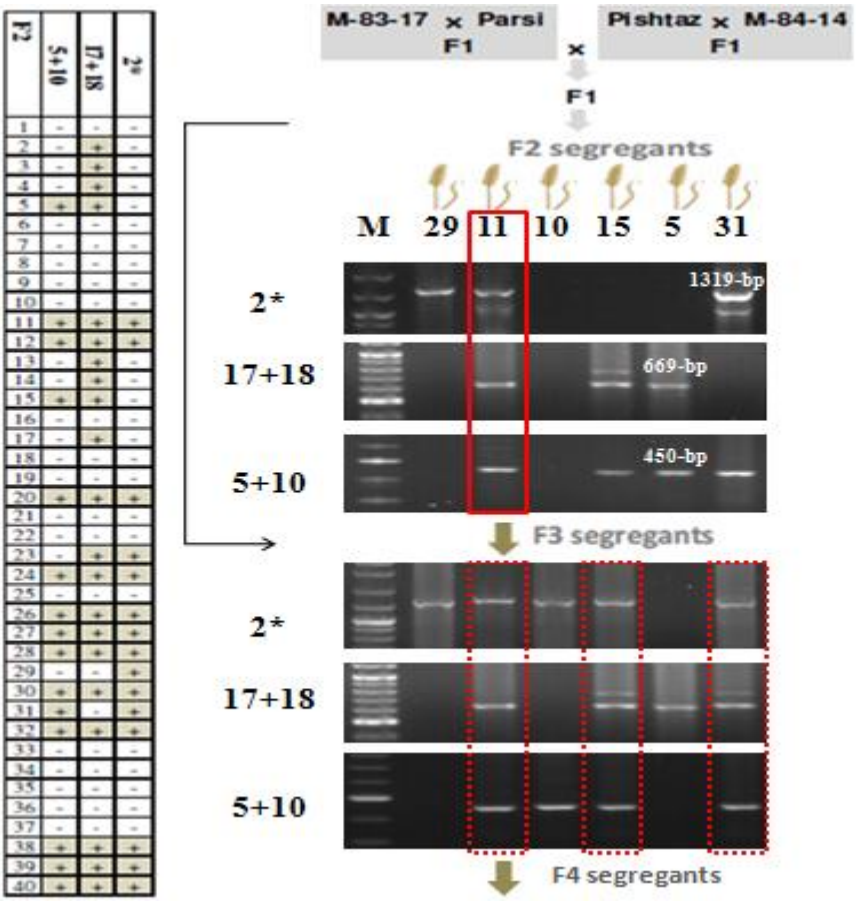
| آلل | آغازگر | دمای اتصال ($^{\circ}C$) | اندازه محصول |
|---|---|---|---|
| ۲* | F:ATGACTAAGCGGTTGGTTCTT<br>R:ACCTTGCTCCCCTTGTCTTT | ۵۳ | ۱۳۱۹ bp |
| ۱۷+۱۸ | F:CGCAACAGCCAGGACAATT<br>R:AGAGTTCTATCACTGCCTGGT | ۵۸ | ۶۶۹ bp |
| ۵+۱۰ | F:GCCTAGCAACCTTCACAATC<br>R:GAAACCTGCTGCGGACAAG | ۵۱ | ۴۵۰ bp |
| 1BL.1RS | F: TGACAACCCCCTTTCCCTCGT | ۶۵ | ۲۰۷ bp |
| 1AL.1RS | R: TCATCGACGCTAAGGAGGACCC | ۵۰ | ۲۲۸ bp |

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از الکتروفورز واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به منظور تشخیص حضور و یا عدم‌حضور آلل‌های برتر *۲، ۱۸+۱۷ و ۱۰+۵ در نتاج هتروزیگوت نسل $F_2$ و $F_3$ در شکل ۲ دیده می‌شود. با توجه به بررسی آلل‌های حاصل از جابه‌جایی گندم چاودار نتایج نشان داد که هیچ‌یک از نتاج هتروزیگوت نسل $F_2$ دارای آلل‌های 1BL.1RS و 1AL.1RS نمی‌باشند. بر اساس مطالعات انجام شده در این تحقیق در سطح DNA، روی نتاج $F_2$ و $F_3$ نامبرده می‌توان رتبه‌بندی کیفی نتاج را بر اساس بهترین و بدترین نتاج از نظر کیفیت نانوایی و با جدول امتیازدهی پاین (۱۲) تعیین کرد. بر این اساس ارقام دارای امتیاز بین ۸-۱۰، ۵-۷ و ۳-۴ بترتیب دارای کیفیت بالا، متوسط و پایین می‌باشند. آزمون ارتفاع رسوب SDS که روشی برای تعیین کیفیت پروتئین

1- Touch down PCR

است، به‌عنوان تائیدی برای نتایج حاصل از نشانگرها از نوع جایگاه نشانمند از توالی (STS) بکار رفت و در جدول ۲ مشخص شده است.




شکل ۲- روند انتخاب نتاج در نسل‌های در حال تفکیک $F_2$ و $F_3$ برای بهبود کیفیت نانوایی بر اساس آزمون فعالیت Ax2*، Bx17، Dx5، در ۶ نمونه افراد جمعیت $F_2$ و $F_3$ گندم هگزاپلوئید تلاقی مربوطه، M: سایز مارکر (100 bp) می‌باشد.

عدد رسوب SDS هرچه بیشتر باشد کیفیت گلوتن مطلوب‌تر می‌باشد. نتایج همبستگی ساده آلل‌های برتر مکان ژنی *Glu-1* (جدول ۳) نشان داد که آلل‌های ۲*، ۱۷+۱۸ و ۵+۱۰ همبستگی مثبت و معنی‌داری با صفت ارتفاع رسوب دارند. این نتیجه با نتایج صادق‌زاده و همکاران (۱۷) و نجفیان و همکاران (۱۱) مطابقت دارد. با توجه به نتایج حاصل از آزمون ارتفاع رسوب SDS، آلل‌های ۲* از مکان ژنی *Glu-A1*، ۵+۱۰ از مکان ژنی *Glu-D1* و ۱۷+۱۸ از مکان ژنی *Glu-B1* روی ارتفاع رسوب بیشترین تاثیر را دارد به‌طوریکه وجود این آلل‌ها باعث افزایش ارتفاع رسوب SDS می‌شود. نتایج نشان داد که نتاج با آلل‌های سه‌گانه (۲*، ۱۷+۱۸ و ۵+۱۰) با بالاترین رتبه کیفی دارای میانگین ارتفاع رسوب SDS حدود ۶۷ بوده و سایر نتاج دارای میانگین آزمون رسوب ۵۶/۲ می‌باشند.

علیرغم اینکه این نتیجه تائیدی بر نتایج حاصل از طریق مارکرهای STS است ولی بالا یا پایین بودن ارتفاع رسوب SDS دلیل قطعی بر صحت این نظر نمی‌باشد زیرا با توجه به آزمون ارتفاع رسوب SDS و نتایج جدول ۲، نتاجی چون ۷، ۸، ۹، ۱۹، ۲۱ و ۲۵ با وجود اینکه فاقد هر سه آلل‌های پرکیفیت هستند، عدد ارتفاع رسوب SDS آنها بالاست (به ترتیب برابر ۶۸، ۶۶، ۷۱، ۷۴، ۶۲ و ۶۵). کیفیت نانوایی علاوه بر زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا، تحت‌تاثیر زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین، نسبت گلوتنین به گلیادین، توزیع وزن مولکولی و محتوای پروتئین کل می‌باشد (۶). این نتایج اهمیت زمینه ژنتیکی بین زیر واحدهای مختلف و سایر اجزای گلوتن به همراه اثرات محیطی را نشان می‌دهند.

انتخاب نتاج برگزیده با پتانسیل کیفی و عملکرد بالا از نسل $F_2$ برای رفتن به نسل $F_3$ و $F_4$ و نسل‌های بالاتر در آزمایشگاه و با توجه به حضور هر سه آلل برتر *۲، ۱۸+۱۷ و ۱۰+۵ که موثر در کیفیت می‌باشند و در مزرعه از نظر خصوصیات ظاهری و صفات مورفولوژیکی با بررسی و بازدید تک‌تک بوته‌ها و لاین‌ها در مراحل مختلف از جمله قدرت گیاه، تعداد خوشه زیاد، ساختمان کانوپی بسته، بیوماس بالا، رنگ دانه (قرمز و سفید)، ارتفاع حدود یک متر (برای برداشت مکانیکی)، زودرسی متوسط و مقاومت به بیماری‌ها (زنگ زرد گندم، زنگ قهوه‌ای، سیاهک ناقص و ...) انتخاب شدند که نتاج انتخابی واجد صفات مطلوب و عاری از صفات نامطلوب بودند و مجدداً به منظور تعیین محتوای ژنتیکی حاصل از آزمون‌های DNA، از هر جمعیت برگزیده ۱۰ نمونه انتخاب و با اتیکیت نشاندار شده و به آزمایشگاه منتقل شدند و افراد برتر این نتاج انتخابی از نظر حضور هر سه آلل برتر کیفی برای انتقال به نسل $F_4$ آماده شدند. جدول ۴ نتاج انتخابی در نسل‌های $F_2$ و $F_3$ را نشان می‌دهد. عدم‌حضور آلل‌های حاصل از جابه‌جایی گندم چاودار یک امتیاز بالا برای بهبود کیفیت نانوایی محسوب می‌شود و با استفاده از این روش می‌توان روند اصلاحی برای کیفیت را بهینه و کوتاه‌تر کرد.

جدول ۲- آلل‌های شناسایی شده در جمعیت $F_2$ مورد مطالعه

| رتبه کیفی نتاج $F_2$ برای آلل‌های مورد بررسی | آزمون ارتفاع رسوب SDS | 1BL.1RS/1AL.1RS | ۵+۱۰ | ۱۷+۱۸ | ۲* | نتاج |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ۰ | ۵۵ | - | - | - | - | ۱ |
| ۳ | ۴۷ | - | - | + | - | ۲ |
| ۳ | ۷۳ | - | - | + | - | ۳ |
| ۳ | ۶۰ | - | - | + | - | ۴ |
| ۳+۴=۷ | ۵۹ | - | + | + | - | ۵ |
| ۰ | ۴۸ | - | - | - | - | ۶ |
| ۰ | ۶۸ | - | - | - | - | ۷ |
| ۰ | ۶۶ | - | - | - | - | ۸ |
| ۰ | ۵۱ | - | - | - | - | ۹ |
| ۰ | ۵۰ | - | - | - | - | ۱۰ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۶۸ | - | + | + | + | ۱۱ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۷۲ | - | + | + | + | ۱۲ |
| ۳ | ۴۵ | - | - | + | - | ۱۳ |
| ۳ | ۶۵ | - | - | + | - | ۱۴ |
| ۳+۴=۷ | ۷۱ | - | + | + | - | ۱۵ |
| ۰ | ۵۳ | - | - | - | - | ۱۶ |
| ۳ | ۵۶ | - | - | + | - | ۱۷ |
| ۰ | ۴۶ | - | - | - | - | ۱۸ |
| ۰ | ۵۴ | - | - | - | - | ۱۹ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۶۰ | - | + | + | + | ۲۰ |
| ۰ | ۶۲ | - | - | - | - | ۲۱ |
| ۰ | ۶۸ | - | - | - | - | ۲۲ |
| ۳+۳=۶ | ۶۵ | - | - | + | + | ۲۳ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۷۳ | - | + | + | + | ۲۴ |
| ۰ | ۶۵ | - | - | - | - | ۲۵ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۷۷ | - | + | + | + | ۲۶ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۵۸ | - | + | + | + | ۲۷ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۶۲ | - | + | + | + | ۲۸ |
| ۳ | ۳۸ | - | - | - | + | ۲۹ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۷۰ | - | + | + | + | ۳۰ |
| ۳+۴=۷ | ۵۶ | - | + | - | + | ۳۱ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۵۹ | - | + | + | + | ۳۲ |
| ۰ | ۴۴ | - | - | - | - | ۳۳ |
| ۰ | ۳۹ | - | - | - | - | ۳۴ |
| ۰ | ۵۵ | - | - | - | - | ۳۵ |
| ۰ | ۵۸ | - | - | - | - | ۳۶ |
| ۰ | ۵۹ | - | - | - | - | ۳۷ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۷۳ | - | + | + | + | ۳۸ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۷۰ | - | + | + | + | ۳۹ |
| ۳+۳+۴=۱۰ | ۶۲ | - | + | + | + | ۴۰ |

جدول ۳- ضرایب همبستگی ساده آلل‌های برتر مکان ژنی *Glu-1* با ارتفاع رسوب SDS

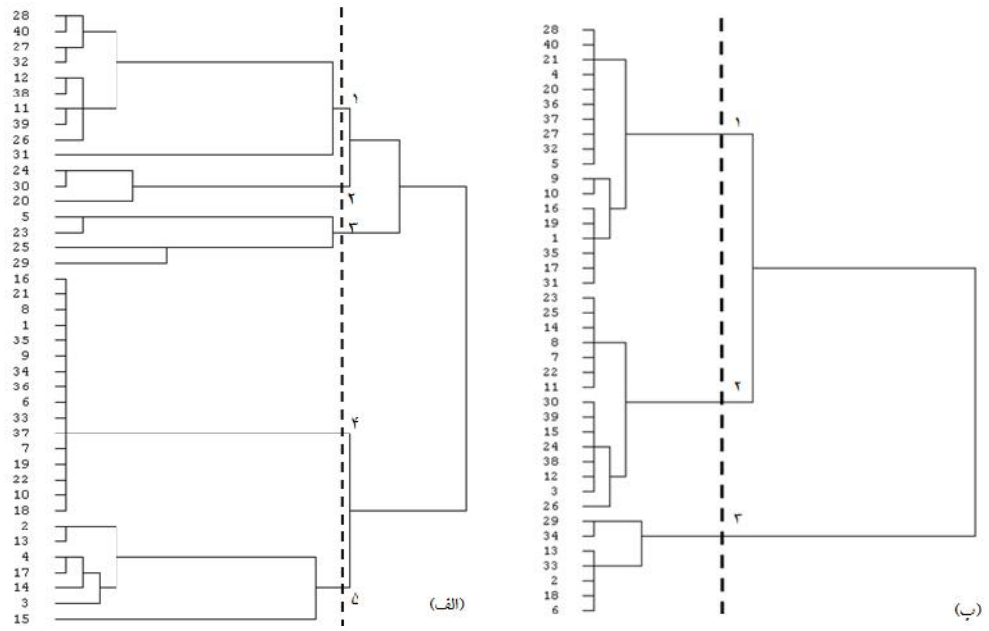
| | ۲* | ۱۷+۱۸ | ۵+۱۰ |
|---|---|---|---|
| ۱۷+۱۸ | ۰/۵۹** | | |
| ۵+۱۰ | ۰/۷۴** | ۰/۵۱** | |
| SDS | ۰/۵۲** | ۰/۴۸** | ۰/۳۸* |

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

جدول ۴- نتاج انتخابی در نسل‌های $F_2$ و $F_3$

| تلاقی مربوطه | M-83 17/3/ Dove"S"/Buc"S"//2*Darab/4/Pishtaz/3/Ww33/Vee"S"//Niknejad |
|---|---|
| نتاج $F_2$ | ۱-۲-۳-۴-۵-۶-۷-۸-۹-۱۰-۱۱-۱۲-۱۳-۱۴-۱۵-۱۶-۱۷-۱۸-۱۹-۲۰-۲۱-۲۲-۲۳-۲۴-۲۵-۲۶-۲۷-۲۸-۲۹-۳۰-۳۱-۳۲-۳۳-۳۴-۳۵-۳۶-۳۷-۳۸-۳۹, ۴۰ |
| نتاج $F_2$ انتخابی برای نسل $F_3$ | ۱۱-۱۲- ۲۰-۲۴-۲۶-۲۷-۲۸-۳۰-۳۲-۳۸-۳۹-۴۰ |
| نتاج $F_3$ انتخابی برای نسل $F_4$ | ۱۱-۱۲-۲۶-۲۷-۳۲-۳۸ |

در این مطالعه با استفاده از نتایج آزمون ارتفاع رسوب SDS و توزیع آلل‌های برتر کیفی مکان ژنی *Glu-1* دو گروهبندی به روش بین‌گروهی انجام گرفت. تجزیه خوشه‌ای بر اساس توزیع آلل‌های برتر ۲*، ۱۷+۱۸ و ۵+۱۰ نتاج را به ۵ گروه تفکیک می‌نماید. گروه اول ۹ نتاج شامل هر سه آلل و نتاج ۳۱ شامل دو آلل ۲* و ۵+۱۰ می‌باشد. گروه دوم شامل سه نتاج با سه آلل برتر کیفی بوده ولی در بررسی‌های مورفولوژیک در مزرعه به زنگ زرد حساسیت نشان داده لذا برای انتخاب نسل‌های بعدی مناسب نبودند. گروه سوم، شامل چهار نتاج با دو آلل ۵+۱۰ و ۱۷+۱۸ و یا ۵+۱۰ به تنهایی می‌باشد. گروه چهارم، ۱۶ نتاج از میان نتاج نسل $F_2$ را در برمی‌گیرد که فاقد هر سه آلل ۲*، ۱۷+۱۸ و ۵+۱۰ می‌باشند. گروه پنجم، شامل شش نتاج دارای آلل ۱۷+۱۸ و یک نتاج شامل آلل‌های ۱۷+۱۸ و ۲* می‌باشند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ارتفاع رسوب SDS در محلی که اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار بود تشکیل ۳ کلاستر دادند. گروه اول، ۱۸ نتاج با حجم رسوب متوسط ۵۰-۶۲ کیفیت متوسط دارند و گروه دوم، شامل ۱۵ نتاج با بالاترین حجم رسوب SDS بین ۶۵-۷۷ می‌باشد که کیفیت بالایی دارد. گروه سوم شامل ۷ نتاج با حجم رسوب پایین ۳۸-۴۸ بوده که کیفیت پایینی دارد. شکل ۳ دندروگرام حاصل برای هر دو تجزیه خوشه‌ای را نشـــان می‌دهد.




شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نتاج به روش بین‌گروهی (Between Groups)، (الف) بر اساس توزیع آلل‌های برتر، (ب) بر اساس آزمون ارتفاع رسوب SDS، خط چین نشانگر نقطه برش (Cut off) در دندروگرام‌ها.

نتایج بدست آمده با مطالعات کاوچل و همکاران (۸) هماهنگی دارد وی با تکنیک انتخاب به کمک نشانگر در نسل‌های در حال تفکیک به افزایش مقاومت به بیماری زنگ زرد و برگ و افزایش کیفیت نانوایی پرداخت. انتخاب به کمک نشانگر در جمعیت تلاقی برگشتی به منظور بهبود کیفیت گلوتنین ارقام گندم اسپانیایی توسط دی بوستوس و همکاران (۲) انجام گرفت. مطالعات مشابهی در این زمینه توسط رادووانوویک و کلودیر (۱۴) به منظور بهبود کیفیت زیر واحدهای سنگین گلوتنین انجام گرفت. نتیجه بر این است که این بالا و پایین بودن رسوب بدلیل حضور آلل‌هایی غیر از آلل‌های مورد مطالعه می‌باشد که کیفیت بالا یا پایین را ناشی می‌شود لازم به ذکر است که تنوع آللی در مکان‌های ژنی سه‌گانه تنها در حدود ۳۰ درصد تغییرات مربوط به کیفیت نانوایی را توجیه می‌نمایند و لزوما" رقمی که دارای امتیاز کیفیت ژنوم بالایی باشد، به‌منزله قطعی بودن کیفیت نانوایی بالای آن نیست (۱۱). با توجه به نتایج، آگاهی از وضعیت زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در والدین و انتخاب والدین دارای آلل برتر کیفی، جهت انتخاب نتاج در نسل‌های در حال تفکیک بر اساس آلل‌های فوق در برنامه‌های به‌نژادی گندم، برای بدست آوردن نتاج با کیفیت نانوایی بالا و جایگزینی ارقام موجود مفید می‌باشد.

## منابع


1. D`ovidio, R. and S. Masci. 2004. The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. Journal of Cereal Science, 39: 321-339.
2. de Bustos, A., P. Rubio, C. Soler, P. García and N. Jouve. 2001. Marker assisted selection to improve HMWglutenins in wheat. Euphytica, 119: 69-73.
3. Eizadi Darbandi, A. and B. Yazdi samadi. 2012. Marker-assisted selection of highmolecular weight glutenin alleles related to bread-making quality in Iranian common wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Genetics, 91: 193-198.
4. Eizadi 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 modernIranian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Journal of Genetics, 89: 193-199.
5. Eizadi Darbandi, A., B. Yazdi samadi, S. Abd-Mishani, A.A. Shanejat Boushehri and F. Shahriari. 2001. Variation in Low Molecular Weight Glutenin Subunit in Some Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties Using Electrophoresis. Iranian Journal of Agriculture Science, 33(1): 37-47.
6. Gupta, R.B., I.L. Batey and F.M. Ritchie. 1992. Relationships between protein composition and functional properties of wheat flour. Cereal Chemistry, 69: 125-131.
7. Johal, J., M.C. Gianibelli, S. Rahman, M.K. Morell and K.R. Galem. 2004. Characterization of lowmolecular-weight glutenin genes in *Aegilops tauschii.* Theoretical and Applied Genetics, 109: 1028-1040.
8. Kuchel, H., R. Fox, J. Reinheimer, L. Mosionek, N. Willey, H. Bariana and S. Jefferies. 2007. The successful application of a marker-assisted wheat breeding strategy. Molecular Breeding, 20: 295-308.
9. Ma, W., W. Zhang and K.R. Gale. 2003. Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat. Theoretical and Applied Genetics, 134: 51-60.
10. Murray, M. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research, 8: 4321-4325.
11. Najafian, G., S. Abd-mishani and B. Yazdi-samadi. 1997. Effect of allelic variation for High Molecular Weight Glutenin subunit bread making quality of breeding lines of wheat. Iranian Journal of Agricultural Science, 28: 31-40. (In Persian)
12. Payne, P.I., M.A. Nightengale, A.F. Krattiger and L.M. Holt. 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and breadmaking quality of British grown wheat varieties. Journal of Science Food Agriculture, 40: 51-65.
13. Quick, J.S. and B.I. Donnelly. 1980. A rapid test for estimation of durum wheat gluten quality. Crop Science, 20: 816-818.
14. Radovanovic, N. and S. Cloutier. 2003. Gene-assisted selection for high molecular weight glutenin subunits in wheat doubled haploid breeding programs. Molecular Breeding, 12: 51-59.
15. Ranjbar, G.A., G.J. Hollamby and K.W. Shepherd. 2006. Segregation patterns of known major genes in the doubled haploid population derived from (Trident×Molineux) wheat $F_1$ ×maize crosses I. determination of endosperm protein phenotypes. Journal of Agriculture Science Natural Resource, 12(5): 174-181.
16. Saal, B. and G. Wricke. 1999. Development of simple sequence repeat markers in rye Secale cereale. Genome. 42: 964-972.

17. Sadeghzadeh, B., M.R. Ghannadha, P. Ahmadian Tehrani, S. Abdmishani and B.E. Seied Tabatabaei. 2002. Determination of relationship between HMW-GS and wheat baking quality through Electrophoresis. Iranian Journal of Agricultural science, 33: 535-542. (In Persian)
18. Uthayakumaran, S., Y. Listiohadi, M. Baratta, I.L. Batey and C.W. Wrigley. 2006. Rapid identification and quantitation of high-molecular-weight glutenin subunits. Journal of Cereal Science, 44: 34-39.
19. Vejl, P. 1998. Využití genetických markerů pro tvorbu dihaploidní pšenice obecné (*Triticum aestivum L.*), [Disertatační práce.] ČZU, Praha: 344s.
20. Wang, C.M., L.H. Li, X.T. Zhang, Q. Gao, R.F. Wang and D.G. An. 2009. Development and application of EST-STS markers specific to chromosome 1RS of *Secale cereale*. Cereal Research Communication, 37(1): 13-21.
21. Weng, Y., P. Azhaguvel, R.N. Devkota and J. C. Rudd. 2007. PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background. Plant Breeding, 126: 482-486.
22. Xu, Q., J. Xu, C.L. Liu, C. Chang, C.P. Wang, M.S. You, B.Y. Li and G.T. Liu. 2008. PCR-based markers for identification of HMW-GS at *Glu-B1x* loci in common wheat. Journal of Cereal Science, 47: 394-398.

# Marker Assisted Selection (MAS) for Bread Making Quality in Segregating Generations of Common Wheat

**Elham Mehrazar[1], Ali Izadi Darbandi[2], Mohsen Mohammadi[3] and Godarz Najafian[4]**

1 - Former M.Sc. Student and, College of Abouraihan, University of Tehran
(Corresponding author: elhammehrazar@ymail.com)
2- Assistant Professor, College of Abouraihan, University of Tehran
3 and 4- Assistant Professor and Associate Professor Seed and Plant Improvement Institute, Cereals Research Department, Karaj
Received: October 21, 2012 Accepted: April 20, 2013

## Abstract

Molecular markers are considered as useful tools for breeding, screening and genetic characterization of genotypes. In crop plants, using of marker assisted selection (MAS) for traits such as product quality and resistance to pests and diseases is being widely adopted by numerous breeding programs worldwide. In current study effects of high molecular glutenin subunit loci *Glu1*, alleles 2*, 17+18 and 5+10 were shown to be the most effective alleles for increasing gluten quality, respectively. In present study, we have screened $F_2$ progenies of a composite cross (M-83-17/3/Dove"S"/Buc"S"//2*Darab/4/Pishtaz/3/Ww33/Vee"S"//Niknejad) belonging to breeding program for temperate climate regions of Iran for presence of 2*, 17+18 and 5+10 alleles. Forty individuals from $F_2$ generation were tagged in the field. Sequence tagged site (STS) primers Were used as specific markers to test for the presence of 2*, 17 +18 and 5+10 in progenies. Our genotyping tests have revealed that out of 40 progenies, 12 individuals possessed the three alleles. Six out of 12 $F_3$ progenies with 10 samples were selected and have been transferred to $F_4$ generation. Results obtained from molecular markers experiment were in agreement with the results from SDS sedimentation test. It is indicated that 2*, 17+18 and 5+10 alleles have positive correlation with SDS-sedimentation volume. Cluster analysis based on between-group variances recognized five different clusters for high quality alleles with different combinations of the three alleles mentioned and three clusters for SDS-sedimentation volume with high, medium and low SDS-sedimentation volume, respectively.

**Keywords:** Cluster analysis, Sequence Tagged Site (STS), Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), Glutenin, Correlation