دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی صفات مورفولوژیک و تنوع ژنتیکی مرتبط با زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) در بین برخی از ارقام گندم نان با استفاده از نشانگرهای SRAP

محمد پرند[۱]، احد یامچی[۲]، حسن سلطانلو[۳] و خلیل زینلی نژاد[۴]

۱، ۳ و ۴- دانشجوی دکتری کشاورزی هسته‌ای، دانشیار و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: yamchi@gau.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۱۳

چکیده

یکی از صفات مهم در اصلاح کیفیت گندم ارزش نانوایی آن است. در این آزمایش تنوع آللی ژن‌های رمزکننده گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) در پانزده رقم گندم با کیفیت‌های نانوایی خوب، متوسط و بد با استفاده از نشانگرهای SRAP مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین صفات مورفولوژیک از قبیل عملکرد، وزن صد دانه، تعداد سنبله در کرت، تعداد دانه در سنبله، ارتفاع بوته و طول سنبله نیز در کنار نتایج حاصل از نشانگر SRAP مورد ارزیابی قرار گرفتند تا رابطه احتمالی بین نتایج درخت فیلوژنی داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی بررسی شود. در این آزمایش بر اساس نواحی تکراری گلوتامین دو نشانگر SRAP طراحی شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک نشان داد که رقم‌ها از نظر کلیه صفات در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی دار بودند. همچنین محاسبه ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی حاکی از آن بود که بالاترین ضریب همبستگی متعلق به رابطه بین عملکرد و تعداد سنبله در کرت است. گروه‌بندی ارقام گندم به روش WARD و خط برش با استفاده از روش CCC پلات، ارقام را در سه گروه متمایز دسته‌بندی کرد. در مورد نشانگر SRAP1 محدوده تکثیر باندها بین ۲۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز و در مورد نشانگر SRAP2 محدوده تکثیر باندها بین ۹۰ تا ۲۵۰۰ جفت باز بود. در مجموع ۱۹ باند بین ۱۵ ژنوتیپ تکثیر شد که ۸ باند چندشکل بودند و درصد چندشکلی ۴۲/۱ درصد بدست آمد. محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) برای نشانگر SRAP1 برابر با ۰/۱۱ و برای نشانگر SRAP2 برابر با ۰/۳۹ بود. با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر داده‌های مولکولی و بر اساس ضریب جاکارد و روش UPGMA ژنوتیپ‌ها در چهار دسته گروه بندی شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگر SRAP تا حدودی توانسته است ارقام مورد بررسی را از نظر صفت کیفیت نانوایی گروه‌بندی کند و نتایج حاصل از این گروه‌بندی می‌تواند با نتایج حاصل از داده‌های موروفولوژیک مورد مقایسه قرار بگیرد.

واژه‌های کلیدی: گندم نان، کیفیت نانوایی، صفات مورفولوژیک و نشانگر SRAP

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) با بیش از هزاران رقم، گیاه زراعی بسیار مهم از نظر اقتصادی بوده که به گستره وسیعی از محیط‌های کشت سازگار می‌باشد. گندم اولین گیاه زراعی اهلی شده در بین گیاهان زراعی به شمار می‌آید و این گیاه به همراه برنج و ذرت بیش از ۶۰ درصد کالری و پروتئین زندگی روزانه بشر را تامین می‌کند (۱۴). یکی از صفات مهم در اصلاح کیفی گندم کیفیت آرد و ارزش نانوایی آن می‌باشد. کیفیت آرد و پخت نان در گندم صفتی پیچیده و تحت تاثیر عوامل متعدد محیطی و ژنتیکی است بطوریکه حتی عواملی نظیر تعادل بین ترکیبات مختلف مانند نشاسته، پروتئین‌های گلوتن، لیپیدها، آب و تداخل بین این ترکیبات نیز تعیین‌کننده کیفیت یک رقم هستند (۵)، حتی می‌توان گفت آرد مورد استفاده برای نان بایستی دارای مقدار کافی پروتئین باشد تا خمیر بدست آمده خصوصیت کارکردی مناسبی را داشته باشد (۳۱).

پرولامین‌های گلوتن (گلیادین و گلوتنین) کیفیت آرد گندم برای فرایندهای تکنولوژیکی مختلف نظیر تهیه و پخت نان را تعیین می‌نمایند. ارزش نانوایی بستگی مستقیم با استحکام گلوتنین دارد (۲۴). گلایدین‌ها پروتئین‌های مونومریکی هستند که پیوند دی‌سولفیدی از نوع داخلی ایجاد می‌کنند در حالی که گلوتنین‌ها، پروتئین‌های پلیمریکی بوده که پیوند دی‌سولفیدی (از نوع بین مولکولی) مابین زیر واحدهای مختلف منجر به تشکیل آن‌ها می‌گردد هرچند که پیوندهای درون مولکولی هم در این پروتئین‌ها دیده می‌شود (۱۰).

گلوتن گندم عامل بوجود آورنده دو خصوصیت فیزیکی خمیر نان می‌باشد: خاصیت الاستیسیته یا کشسانی که با گلوتنین‌های پلیمری و میزان چسبندگی که با گلیادین‌های مونومری مرتبط است. پروتئین‌های گلوتنین خود از دو گروه متمایز: زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا[۱] و زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین[۲] تشکیل شده است (۱۵). زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا تقریباً ۱۰ درصد گلوتن را تشکیل می‌دهند و سهم بسزایی در کیفیت مطلوب نانوایی ایفا می‌نمایند. با توجه به تحقیقات گسترده بر روی HMWها این پروتئین‌ها فراوانی اندک داشته و تحت‌تاثیر تعداد معدودی متغیر می‌باشند در حالی که LMWها شامل تعداد زیادی از پلی‌پپتیدها با ساختارهای پیچیده بوده که ساختارها، سازمان‌یابی آنها و روابط بین اجزای متعدد LMWها در فرآیند کیفیت به طور کامل شناسایی نشده است (۱۰).

LMW-GS توسط ژن‌های موجود بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره یک کد می‌شوند (۳۰،۳۲). همچنین بعضی از زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین از نوع B توسط ژن‌هایی که بر روی کروموزوم شماره ۶ هستند، کد می‌گردند (۲۷). LMWهای رایج توسط خانواده ژنی *Glu-3* که تعداد رونوشت‌های نامشخصی دارند، کد می‌شوند. البته با استفاده از تکنیک‌هایی نظیر لکه‌گذاری ساترن تعداد رونوشت‌های ژن از

1- High Molecular Wight-Glutenin Subunits
2- Low Molecular Wight-Glutenin Subunits

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

۱۰ الی ۱۵ (۱۶) تا ۳۵ الی ۴۰ (۷،۳۷) در گندم هگزاپلوئید تخمین زده می‌شود. اطلاعات ساختارهای ژنی کدکننده LMWها شامل بیش از ۷۰ DNAی کلون شده در بانک اطلاعاتی است که از حدود ۱۵ ژنوتیپ مختلف و عمدتا مربوط به *T. aestivum* و *T. durum* تشکیل شده است (۱۰). هر LMW-GS از چهار بخش ساختاری تشکیل می‌شود که شامل: یک سیگنال پپتید با طول ۲۰ اسید آمینه، انتهای آمینی با طول ۱۳ اسید آمینه، دمین تکراری (غنی از کدون‌های گلوتامین) و انتهای کربوکسیلی است (۱۰). کاسیدی و همکاران (۷) و همچنین اویدیو و ماسکی (۱۰) نیز پیشنهاد کردند که انتهای کربوکسیلی از سه بخش شامل ناحیه غنی از اسید آمینه سیستئین (با پنج واحد سیستئین)، ناحیه غنی از گلوتامین (با یک واحد سیستئین و واحدهای پشت سر هم گلوتامین) و ناحیه با توالی حفاظت شده‌ی پایانه کربوکسیل با حداقل واحدهای سیستئین تشکیل شده است. تعداد تکرارهای موجود در ناحیه دمین تکراری که بین ۱۲ الی ۲۵ جفت باز است، مسوول تنوع طول در این ناحیه به شمار می‌رود (۱۰). مقایسه آلل‌های مربوط به یک مکان ژنی و همچنین آلل‌های مربوط به مکان‌های ژنی مختلف پیشنهاد می‌کند این تنوع که در نتیجه حذف یا اضافه شدن واحدهای تکراری (۹) و با احتمال خیلی بالا در نتیجه کراسینگ اور نابرابر و یا لغزش در حین همانندسازی حاصل می‌شود، در نهایت در تکامل پرولامین‌ها حائز اهمیت باشد (۴۳). طول هر واحد تکراری به همراه توالی حفاظت شده بین ۱۲ تا ۲۷ جفت باز متغیر است (جدول ۱).

جدول ۱- توالی‌های حفاظت شده در ناحیه تکراری ساختار LMW-GS (۱۰)

Table 1. Conserved sequence in repetitive domain of LMW-GS structure (10)

شماره دسترسی در بانک ژن	توالی حفاظت شده‌ی نواحی تکراری در ساختار LMW-GSها	توالی اسید آمینه نواحی حفاظت شده
U86028	5'CCACCATTTTCACAA3'	PPFSQQ
AB062878	5'CCACCATTTTCACAGCAACAACAA3'	PPFSQQQQ
Y17845	5'CCACCATTTTCGCAACAACAACAA3'	PPFSQQQQ

طراحی آغازگر از ناحیه حفاظت شده اگزونی می‌تواند منجر به تکثیر نواحی کدکننده ژن‌های مرتبط با LMW-GSها از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) منجر شود (۲۲). شریعت و همکاران (۴۲) تنوع آللی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین را در مکان‌های *Glu-A3*، *Glu-B3* و *Glu-D3* در گندم‌های نان بومی بهاره ایرانی مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق برای مکان‌های *Glu-A3*، *Glu-B3* و *Glu-D3* به ترتیب ۱۲، ۲ و ۹ آلل تکثیر شدند. همچنین برای بررسی رابطه تنوع آللی ژن‌های LMW-GS گندم‌های بهاره ایران و مناطق آب و هوایی کشور، تجزیه واریانس مولکولی انجام شد و نتایج تجزیه واریانس مولکولی داده‌های حاصل از نشانگرهای اختصاصی LMW-GS، نشان داد که واریانس درون و بین گروهی به ترتیب ۸۷ و ۱۳ درصد واریانس کل مولکولی را تبیین کردند. ژن و همکاران (۴۹) آلل جدیدی از LMW-GS را از جایگاه *Glu-A3a* شناسایی کردند که بطور قابل توجهی قدرت خمیر گندم و کیفیت نانوایی را کنترل می‌نمود.

امروزه روش PCR بطور گسترده‌ای برای آنالیز DNA ژنومی مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از مهم‌ترین کاربردهای این تکنیک توسعه نشانگرهای DNA در ایجاد نقشه‌های ژنتیکی بوده است که می‌توان به کاربرد گسترده آن در زمینه‌های اصلاح، طبقه‌بندی، تکامل و همسانه‌سازی ژن‌ها اشاره نمود (۲۱). در این تحقیق نشانگر چندشکلی توالی‌های وابسته تکثیر شده[1] که ترکیبی از سادگی، قابلیت اطمینان و تعیین توالی آسان باندهای انتخاب شده را دارا می‌باشد (۲۱)، مورد استفاده قرار گرفت. این نشانگر توالی‌های کد کننده در ژنوم را هدف قرار داده و در دسته نشانگرهای غالب در نظر گرفته می‌شود. این نشانگر اولین بار در گونه‌های *Brassica* مورد استفاده قرار گرفت اما لی و کیروس (۲۱) در گیاهانی مانند سیب‌زمینی، برنج، سیب، مرکبات و گیاهان دیگر این نشانگر را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق با توجه به توالی‌های حفاظت شده ای که در ساختار LMW-GSها وجود دارند، نشانگرهای SRAP طراحی و سنتز شدند تا بتوان چندشکلی حاصل از این نشانگرها را در ارقامی با کیفیت نانوایی خوب، متوسط و ضعیف مورد ارزیابی قرار داد. SRAP یک سیستم نشانگری مبتنی بر PCR بهمراه دو آغازگر رفت با طول ۱۷ باز و آغازگر برگشت با طول ۱۸ باز به‌شمار می‌آید. آغازگر رفت از یک توالی غیر اختصاصی ۱۰ جفت بازی، توالی CCGG و سه نوکلئوتید اختصاصی در انتهای '۳ تشکیل شده است در حالیکه آغازگر برگشت از یک توالی غیر اختصاصی ۱۱ جفت بازی، توالی AATT و سه نوکلئوتید اختصاصی در انتهای '۳ است. علاوه بر توجه به اصول طراحی آغازگر، در مورد نشانگرهای SRAP محتوی توالی‌های غیراختصاصی در آغازگرهای رفت و برگشت باید متفاوت باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این آزمایش شامل ۱۵ ژنوتیپ گندم با کیفیت‌های نانوایی خوب، متوسط و ضعیف از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند (جدول ۲).

1- Sequence-Related Amplified Polymorphism

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

جدول ۲- مشخصات ژنوتیپ‌های استفاده شده (۳۹)

Table 2. Specifications of genotypes used

ژنوتیپ‌ها	سال معرفی	اقلیم و شرایط کشت	میانگین وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد (کیلوگرم در هکتار)	میانگین درصد پروتئین	کیفیت نانوایی
گلستان	۱۳۶۵	گرم و مرطوب شمال	۳۸/۵	۴۵۰۰	۱۳	خوب
سیروان	۱۳۹۰	مزارع آبی معتدل	۴۵	۵۹۷۰	۱۲	خیلی خوب
پارسی	۱۳۸۸	معتدل	–	۸۵۸۱	۱۲	خیلی خوب
آزادی	۱۳۵۸	اقلیم‌های معتدل	۳۶/۵	۴۳۹۰	۱۰/۷	متوسط تا خوب
فلات	۱۳۶۹	گرمسیر و نیمه گرمسیر	۳۸	۶۲۵۰	۱۲	ضعیف
هیرمند	۱۳۷۰	گرمسیر	۳۷	۵۵۰۰	۱۰/۲	متوسط
تجن	۱۳۷۴	جلگه‌ای ساحل خزر	۳۸	۶۳۰۰	۱۲	خوب
نیک‌نژاد	۱۳۷۴	معتدل	۳۷	۶۷۰۰	۱۲/۵	خوب
اترک	۱۳۷۴	گرم جنوب	۳۵/۵	۵۸۰۰	۱۲/۵	خوب
کویر	۱۳۷۶	شور و کم آب	۳۸	۵۷۰۰	۱۰/۵	متوسط
شیرودی	۱۳۷۶	سواحل دریای خزر	۳۸/۵	۶۵۰۰	۱۰/۴	ضعیف
پیشتاز	۱۳۸۱	مناطق معتدل	۴۴/۵	۷۴۰۰	۱۱/۵	خوب
دز	۱۳۸۱	گرم جنوب	۳۸	۶۱۵۰	۱۰/۸	ضعیف
مروارید	۱۳۸۸	گرم و مرطوب شمال	۴۳	۶۱۵۲	۱۱/۷	ضعیف
بهار	۱۳۸۶	معتدل	–	۶۶۷۹	۱۰/۹۴	متوسط

معرفی ارقام زراعی- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر- سال ۱۳۹۴

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه شماره ۱ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال زراعی ۹۴-۹۵ اجرا شد. هر کرت آزمایشی در شش خط یک متری با فاصله ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند، تراکم کاشت در هر کرت ۳۰۰ دانه و سطح هر کرت یک مترمربع بود. در طول دوره‌ی رشد کودپاشی و کنترل آفات و بیماری‌ها مطابق عرف منطقه صورت گرفت. بعد از پایان دوره‌ی رشد، نمونه‌های هر کرت به صورت جداگانه جمع‌آوری و نمونه‌ها خرمن‌کوبی و بوجاری شده و عمکرد دانه هر کرت اندازه‌گیری شد. عملکرد دانه و اجزای آن به همراه صفات مورفولوژیک شامل: تعداد بوته در کرت، ارتفاع بوته، تعداد سنبله، طول سنبله، تعداد پنجه و وزن ۱۰۰ دانه اندازه‌گیری گردید. برای ثبت ارتفاع بوته و طول سنبله در هر کرت از ۶ بوته تصادفی استفاده شد. برای اندازه‌گیری عملکرد دانه در واحد سطح، بوته‌های چهار ردیف وسط برداشت و پس از خرمن‌کوبی و بوجاری توزین گردید. سطح برداشت در هر کرت ۰/۸ مترمربع بود.

استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش Doyle and Doyle (۱۱) انجام شد. بطوری که برگ‌های تازه گندم در نیتروژن مایع برای مدت ۳۰ ثانیه کوبیده شد و به صورت پودر درآمد و در مراحل بعدی استخراج مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۳- آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق (توالی‌های غیر اختصاصی به رنگ سیاه، توالی‌های مرکزی به رنگ قرمز و توالی اختصاصی سه نوکلئوتیدی به رنگ زرد)

Table 3. Primers used in this study (non-specific sequences in black, the central sequences in red and specific sequence yellow)

آغازگر	توالی ('۳-'۵)	مکان کروموزومی
F-SRAP 1 R-SRAP 1	TGAATACACACCGGACC GACTGTCGCAGAATTGTA	1A
F-SRAP 2/3 R-SRAP 2/3	TGAATACAAACCGGCCA GACTGTCGCAGAATTTTG	1B

PCR در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر حاوی ۵ میکرولیتر بافر مخلوط واکنش (2X *Taq* DNA Polymerase Master Mix RED)، یک میکرولیتر از هر آغازگر (با غلظت ۱۰ پیکومول در میکرولیتر) به‌همراه ۱۰۰ نانوگرم از DNA ژنومی انجام شد. برنامه PCR با واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت چهار دقیقه آغاز شد و سپس پنج چرخه ابتدایی با برنامه مرحله واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه ادامه یافت و بعد از پنج چرخه ابتدایی، دمای اتصال در ۳۵ چرخه بعدی به ۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. برای مشاهده محصولات تکثیر شده از ژل پلی‌آکریل آمید ۱۲ درصد به‌همراه روش رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده شد. ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر اساس وجود (۱) و یا عدم وجود (۰) قطعات DNA مورد نظر امتیازدهی شدند. در مورد داده‌های مولکولی نمودار دندروگرام و تعیین خط برش بر اساس ضریب جاکارد و روش گروه‌بندی UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.2 ترسیم گردید. محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) توسط نرم‌افزار PopGene 1.31 بدست آمد. در مورد داده‌های مورفولوژیکی دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار Minitab V16 و با استفاده از روش WARD رسم گردید. برای تعیین خط برش نیز از نرم‌افزار SAS V9.1 و روش CCC پلات (۲) استفاده شد.

نتایج و بحث

در تحقیق حاضر برخی از صفات مورفولوژیک مهم از قبیل عملکرد، وزن صد دانه، تعداد سنبله در کرت، تعداد دانه در سنبله، ارتفاع بوته و طول سنبله نیز در کنار نتایج حاصل از نشانگر SRAP، مورد ارزیابی قرار گرفتند تا نتایج حاصل از گروه‌بندی صفات مورفولوژیک با گروه‌بندی حاصل از نشانگرهای SRAP مورد مقایسه قرار گرفته و روابط احتمالی بین صفات مورفولوژیک و نشانگرهای SRAP مشخص شود.

نتایج داده‌های فنوتیپی:

آماره‌های توصیفی (جدول ۴) در مورد صفت عملکرد دانه نشان داد که رقم مروارید (۴۲۴/۹۵ گرم) بالاترین میانگین و رقم پارسی (۲۱۴/۰۹ گرم) کمترین میانگین را داشتند. ضریب تغییرات برای متغیر عملکرد برابر ۶/۰۳ درصد بود. سیدول و همکاران (۴۵) در بررسی توارث‌پذیری و رابطه بین عملکرد دانه و صفات مرتبط با آن، در تلاقی گندم‌های سخت زمستانه اظهار داشتند که انتخاب بر مبنای وزن هزار دانه نسبت به سایر اجزاء عملکرد تاثیر بیشتری در افزایش عملکرد دارد. به خاطر رابطه منفی بین وزن دانه با تعداد سنبله در واحد سطح و تعداد دانه در سنبله، انتخاب برای این صفت به منظور افزایش عملکرد، بدون در نظر گرفتن اجزاء دیگر موثر نیست. طوسی مجرد و همکاران (۴۶) با مطالعه روی خصوصیات عملکردی در ۶۴ ژنوتیپ گندم نان، بیان داشتند که تفاوت ژنوتیپ‌ها از نظر اکثر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. کولاکو و هریسون (۸) نیز در گندم رابطه مثبت و بسیار معنی‌داری را بین شاخص برداشت و عملکرد دانه در واحد سطح گزارش کرد. این نتیجه نشان می‌دهد که همراه با افزایش عملکرد دانه، نسبت عملکرد اقتصادی به عملکرد بیولوژیک افزایش یافته است. رشیدی و همکاران (۳۶) به منظور تعیین روابط ژنتیکی ۶۴ ژنوتیپ گندم دوروم را مورد بررسی قرار دادند.

در مورد صفت وزن ۱۰۰ دانه رقم تجن (۳/۹۵ گرم) بالاترین میانگین و رقم پارسی (۲/۸۴ گرم) کمترین میانگین را داشتند. ضریب تغییرات ارقام برای متغیر وزن ۱۰۰ دانه ۱۷/۹۱ درصد بود. همچنین در مورد تعداد سنبله در کرت، رقم مروارید (۳۱۳) بالاترین میانگین و رقم پارسی (۱۵۶/۰۶) کمترین میانگین را داشتند و ضریب تغییرات کل این صفت برابر با ۷/۰۹ درصد بود.

آمار توصیفی برای صفت تعداد دانه در سنبله نشان می‌دهد که رقم پیشتاز (۴۶/۰۶) بالاترین میانگین و رقم هیرمند (۲۲/۶) کمترین میانگین را دارا بودند و ضریب تغییرات این صفت ۳/۶۲ درصد بود. همچنین خلاصه آماری صفت ارتفاع بوته بیانگر این است که رقم آزادی (۹۲/۷۳ سانتی‌متر) بالاترین میانگین و رقم سیروان (۷۱/۷۱ سانتی‌متر) کمترین میانگین را دارا بودند و ضریب تغییرات کل ۱/۰۴ درصد بود. خلاصه آماری صفت طول سنبله نیز نشان داد که رقم کویر (۱۱/۷۲ سانتی‌متر) بالاترین میانگین و رقم پیشتاز (۷/۰۱ سانتی‌متر) کمترین میانگین را دارا بودند و ضریب تغییرات این صفت برابر ۰/۹۵ درصد ثبت گردید. ضریب تغییرات در واقع میزان پراکندگی به ازای یک واحد از میانگین را بیان می‌کند و برای اندازه‌گیری توزیع داده‌های آماری به کار می‌رود و کاربرد اصلی آن مقایسه پراکندگی متغیرهایی است که واحدهای سنجش متفاوتی دارد. در این مطالعه مشخص شد که کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی مربوط به صفت طول سنبله و بالاترین مقدار نیز مربوط به صفت وزن ۱۰۰ دانه بود. شفاء الدین و یزدی صمدی (۴۰) در بررسی توده‌های گندم نان بالاترین میزان تغییرات فنوتیپی را برای صفات عملکرد دانه، طول سنبله، وزن هزار دانه، تعداد سنبلچه در سنبله و ارتفاع بوته به ترتیب با مقادیر ۲۶، ۱۶/۶، ۱۵/۷، ۱۳ و ۶/۹ درصد گزارش نمودند. موسوی شبستری (۲۹) با بررسی عملکرد و اجزای عملکرد ۲۱ لاین گندم مناطق سردسیر، بیشترین و کمترین ضریب تغییرات را به ترتیب برای وزن سنبله (۱۴/۲۸ درصد) و تعداد روز تا گلدهی (۰/۳۸ درصد) به دست آورد. فراهانی و ارزانی (۱۲) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام و هیبریدهای F_1 گندم دوروم با استفاده از صفات زراعی و مورفولوژیک، بیشترین ضریب تغییرات را مربوط به تعداد سنبله ۱۳/۸۷ درصد و کمترین ضریب تغییرات را مربوط به تعداد روز تا رسیدگی با مقدار ۰/۴ درصد اعلام کردند.

تجزیه واریانس خصوصیات مورفولوژیک

تجزیه واریانس داده‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، برای صفات عمکرد دانه، وزن ۱۰۰ دانه، تعداد سنبله، تعداد دانه در سنبله، ارتفاع بوته و طول سنبله انجام شد (جدول ۵). نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان داد که رقم‌ها از نظر کلیه صفات در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی دار بودند. در مطالعه بابائی و همکاران (۴) نیز نتایج تجزیه واریانس برای بسیاری از صفات مورفولوژیک گندم نان در سطح یک درصد معنی‌دار بود. عملکرد دانه در گندم نان، مهم‌ترین بخش اقتصادی گیاه است که حاصل برآیند اجزای عملکرد و دیگر صفات مرتبط با آن می‌باشد. کولاکو و هریسون (۸) نیز در گندم رابطه مثبت و بسیار معنی‌داری را بین شاخص برداشت و عملکرد دانه در واحد سطح گزارش کرد. این نتیجه نشان می‌دهد که همراه با افزایش عملکرد دانه، نسبت عملکرد اقتصادی به عملکرد

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

بیولوژیک افزایش یافته است. یکی از اهداف اصلی در اصلاح گندم، تولید ارقامی است که دارای ظرفیت تولید بیشتری باشند. ظرفیت عملکرد دانه به توانایی ژنوتیپ در ساخت، انتقال و ذخیره مواد غذایی در دانه بستگی دارد (۳).

جدول ۴- آماره‌های توصیفی عملکرد دانه و خصوصیات مورفولوژیک ارقام گندم
Table 4. Descriptive statistics for grain yield and morphological traits in wheat cultivars

نوع صفت	میانگین	حداکثر	حداقل	ضریب تغییرات (٪)
عملکرد دانه (گرم در کرت)	۳۱۰/۷۲	۴۲۴/۹۵	۲۱۴/۰۹	۶/۰۳
وزن ۱۰۰ دانه (گرم)	۳/۴۸	۳/۹۵	۲/۸۴	۱۷/۹۱
تعداد سنبله در کرت	۲۳۱/۰۸	۳۱۳	۱۵۶/۰۶	۷/۰۹
تعداد دانه در سنبله	۳۰/۲۹	۴۶/۰۶	۲۲/۶	۳/۶۲
ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	۸۲/۰۲	۹۲/۷۳	۷۱/۷۱	۱/۰۴
طول سنبله (سانتی‌متر)	۹/۹۳	۱۱/۷۲	۷/۰۱	۰/۹۵۴

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس عملکرد دانه و خصوصیات مورفولوژیک ارقام گندم
Table 5. Analysis of variance for grain yield and morphological traits in wheat cultivars

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد	وزن ۱۰۰ دانه	تعداد سنبله	تعداد دانه در سنبله	ارتفاع بوته	طول سنبله
بلوک	۲	۳۰۶/۷^{ns}	۰/۰۱۱^{ns}	۵۹/۳^{ns}	۰/۳۷۹^{ns}	۰/۵۸۹^{ns}	۰/۰۱۳^{ns}
رقم	۱۴	۷۰۹۹/۱**	۰/۲۴۴**	۶۳۶۶/۸**	۱۰۴**	۹۶/۱**	۴/۷۷۳**
خطا	۲۸	۳۵۱/۹	۰/۰۳۹	۲۶۸/۶	۱/۲۰۹	۰/۷۳۲	۰/۰۰۹

ns، * و **: به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح ۵٪ و۱٪.

ضرایب همبستگی

ضرایب همبستگی پیرسون بین عملکرد دانه و سایر خصوصیات مورفولوژیک اندازه‌گیری و در جدول ۶ نمایش داده شده است. همان گونه که ملاحظه می‌گردد بالاترین ضریب همبستگی متعلق به رابطه بین عملکرد و تعداد سنبله در کرت ($r=۰/۶۶۸^{**}$) بود. مشاهده چنین همبستگی مثبت و معنی‌داری دور از انتظار نبود زیرا تعداد سنبله در بوته یکی از اجزای عملکرد دانه در گندم محسوب می‌گردد. فرناندو و همکاران (۱۳) گزارش دادند که تعداد سنبله در متر مربع بیشترین اثر مثبت را روی عملکرد دانه دارد. در واقع افزایش تعداد سنبله اثر مستقیم بر عملکرد دانه دارد. بنابراین در اصلاح گندم می‌توان بوته‌ها یا ژنوتیپ‌هایی را مورد گزینش قرار داد که تعداد سنبله (یا پنجه بارور) بیشتری تولید می‌کنند و این امر موجب افزایش عملکرد در واحد سطح خواهد گردید. در مطالعه‌ای بر روی ۲۹۸ رقم بومی گندم با استفاده از ۱۲ صفت کمی مشخص شد که بین زمان خوشه رفتن با رسیدگی فیزیولوژیکی، ارتفاع گیاه و تعداد سنبلچه در خوشه همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد ولی با وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه همبستگی منفی وجود داشته است (۴۰). ضریب همبستگی بین تعداد سنبله و تعداد دانه در سنبله $r=-۰/۱۶۱^{**}$ بود. مشاهده چنین همبستگی منفی و معنی‌داری دور از انتظار نبود زیرا با افزایش تعداد سنبله، تعداد دانه در سنبله کاهش می‌یابد. میرآخوندی (۲۸) همبستگی مثبت و معنی داری را بین عملکرد دانه، عملکرد سنبله، طول ریشک، تعداد دانه در سنبله، طول سنبله، تعداد سنبلچه در سنبله، وزن سنبله و وزن هزار دانه گزارش کرد. همچنین همبستگی بین وزن ۱۰۰ دانه و تعداد دانه در سنبله $r= -۰/۰۵۱$ بود. مشاهده‌ی چنین همبستگی منفی منطقی به نظر می‌رسد زیرا با افزایش تعداد دانه در سنبله، وزن ۱۰۰ دانه کاهش می‌یابد. زیرا مواد ذخیره‌ای که از برگ‌ها به دانه‌ها منتقل می‌شود بین تعداد زیادی دانه تقسیم می‌شود و سهم هر دانه از مواد ذخیره‌ای برگ کم می‌شود. واعظی (۴۷) در بررسی پانصد نمونه از توده‌های بومی گندم دوروم، اگرچه همبستگی مثبتی را بین عملکرد دانه و ارتفاع بوته به دست آورد ولی هیچ گونه همبستگی بین عملکرد دانه با طول سنبله و وزن هزار دانه مشاهده نکرد. مهمترین کاربرد ضریب همبستگی در اصلاح گیاهان انجام انتخاب غیرمستقیم است. مثلا برای افزایش عملکرد دانه می‌توان از طریق افزایش اجزای عملکرد (تعداد سنبله در کرت) اقدام نمود. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که پایین بودن ضرایب همبستگی به دلیل استفاده از ارقام زیاد و متنوع می‌باشد.

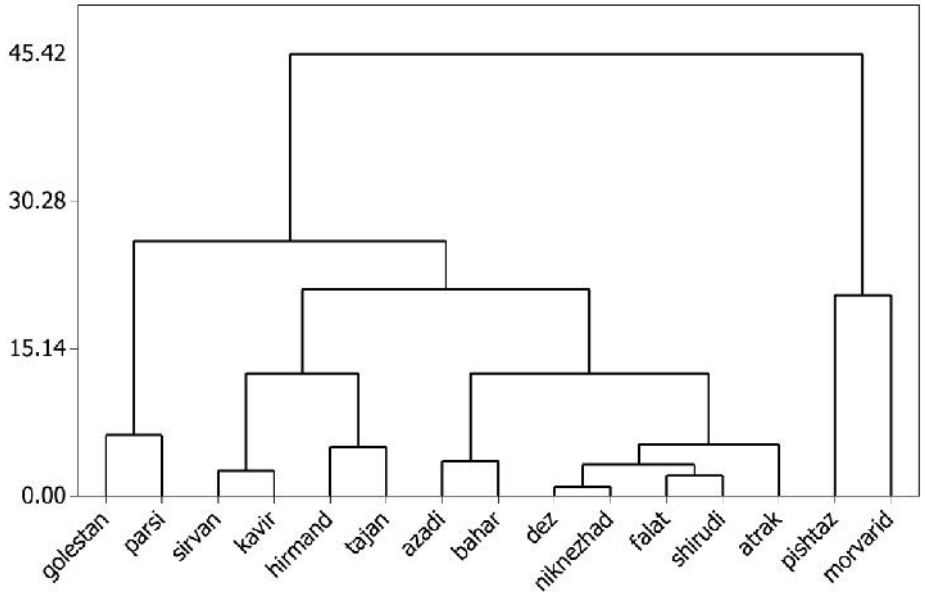
جدول ۶- ضرایب همبستگی خصوصیات مورفولوژیک ارقام گندم مورد بررسی
Table 6. Correlation coefficients for morphological traits of the wheat cultivars

	عملکرد دانه	وزن صد دانه	تعداد سنبله در کرت	ارتفاع گیاه	تعداد دانه در سنبله	طول سنبله
عملکرد دانه	۱					
وزن صد دانه	۰/۲۸۹	۱				
تعداد سنبله در کرت	۰/۶۶۸**	۰/۴۲۶**	۱			
ارتفاع گیاه	۰/۱۶	۰/۲۰۷	-۰/۰۲۲	۱		
تعداد دانه در سنبله	۰/۳۶۳**	-۰/۰۵۱	-۰/۱۶۱	۰/۰۱۲	۱	
طول سنبله	-۰/۳۰۳*	۰/۲۵۵	۰/۱۹۸	-۰/۲۰۷	-۰/۵۷۷**	۱

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

گروه‌بندی ارقام گندم بر اساس صفات مورفولوژیک

نتایج گروه‌بندی ارقام گندم با روش WARD با استفاده از صفات مورفولوژیک شامل عملکرد، وزن ۱۰۰ دانه، تعداد سنبله در کرت، تعداد دانه در سنبله، ارتفاع گیاه و طول سنبله در شکل ۱ نمایش داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود خط برش با استفاده از روش CCC پلات ارقام را در سه گروه متفاوت دسته‌بندی نمود. گروه یک شامل ژنوتیپ‌های گلستان و پارسی است که پایین‌ترین عملکرد و تعداد سنبله را دارا هستند. عمده‌ی ژنوتیپ‌ها نیز در گروه دوم قرار گرفته‌اند. گروه دوم متشکل از ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا است. گروه سوم که شامل ژنوتیپ‌های مروارید و پیشتاز است، بالاترین عملکرد و بالاترین تعداد دانه در سنبله را دارا می‌باشد. با توجه به نتایج ارقام مورد بررسی می‌توان استنباط کرد که در گروه دوم (عمده ارقام) و گروه سوم ارقام با بالاترین عملکرد دانه و در گروه یک ارقام با عملکرد پایین دانه قرار گرفته است (شکل ۱). نکته جالب توجه اینکه در گروه دوم ارقام فلات و شیرودی که به عنوان ارقامی با کیفیت نانوایی ضعیف مطرح هستند، از نظر هفت صفت مورفولوژیکی مورد بررسی نیز بیشترین شباهت را به یکدیگر داشته‌اند و در یک گروه قرار گرفته‌اند. به عبارتی تجزیه کلاستر توانسته بود ارقام مورد بررسی را از نظر ویژگی‌های مورفولوژیک به خوبی تفکیک نماید. آقایی سربرزه (۱) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم دوروم در تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش WARD ژنوتیپ‌ها را در شش گروه دسته‌بندی کرد که هر یک از گروه‌ها دارای ویژگی خاصی از جمله پتانسیل عملکرد، تعداد دانه در سنبله، وزن دانه و غیره بودند. در اصلاح گیاهان، موفقیت در گزینش بستگی به تنوع یا ایجاد نوترکیبی ژنتیکی دارد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس فاصله ژنتیکی وقتی در یک برنامه اصلاحی موثر است که به‌طور هم‌زمان چندین صفت مورد بررسی قرار گیرند. به همین جهت تعیین الگوی تنوع ژنتیکی، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و تعیین فاصله ژنتیکی بین آنها با استفاده از خوشه‌ای انجام می‌گیرد.



شکل ۱- دندروگرام ارقام بر اساس داده‌های مورفولوژیک با استفاده از روش WARD
Figure 1. Dendrogram based on morphological data using WARD method

تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی

نتایج حاصل از تکثیر توسط نشانگر SRAP1 نشان داد که محدوده تکثیر باندها بین ۲۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز و در مورد نشانگر SRAP2 محدوده تکثیر باندها بین ۹۰ تا ۲۵۰۰ جفت باز است. در مجموع ۱۹ باند بین ۱۵ ژنوتیپ تکثیر شد که ۸ باند چند شکل بودند و درصد چند شکلی ۴۲/۱ درصد بدست آمد. نشانگر SRAP2 با ۱۱ باند بیشترین باند را تولید کردند. محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) برای نشانگر SRAP1 برابر با ۰/۱۱ و برای نشانگر SRAP2 برابر با ۰/۳۹ بود (جدول ۷). در نتیجه نشانگر SRAP2 از کارایی بالاتری برخوردار بود. محتوای اطلاعات چند شکلی می‌تواند برای تعیین نشانگرهای کارآمد که بیشترین چند شکلی را نشان می‌دهند استفاده شود. این شاخص ظرفیت هر نشانگر را در شناسایی جایگاه‌های چند شکل در مطالعات بین و درون گونه‌ای توصیف می‌کند و برای نشانگرهایی از قبیل SRAP که نشانگر غالب محسوب می‌شود بین صفر تا ۰/۵ متغیر می‌باشد و برای نشانگرهای هم‌بارز بین صفر تا ۱ متغیر است. نتایج ماتریس تشابه به روش Jaccard در جدول ۷ آمده است. بیشترین و کمترین ضریب تشابه بین ارقام مورد مطالعه به ترتیب برابر با یک و ۰/۶ بود. الگوی باندی حاصل از تکثیر بوسیله نشانگر SRAP1 نشان داد که از مجموع ۸ باند تکثیر شده، ۵ باند به صورت چند شکلی بوده است (شکل ۲).

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

همچنین نتایج تکثیر توسط نشانگر SRAP2 نیز نشان داد که از این بین تعداد ۳ باند چند شکلی بوده است (شکل ۳). در مجموع ۱۱ باند در بین پانزده ژنوتیپ تکثیر شده است که

جدول ۷- نشانگرهای SRAP استفاده شده و نتایج تکثیر آنها در بین ارقام گندم

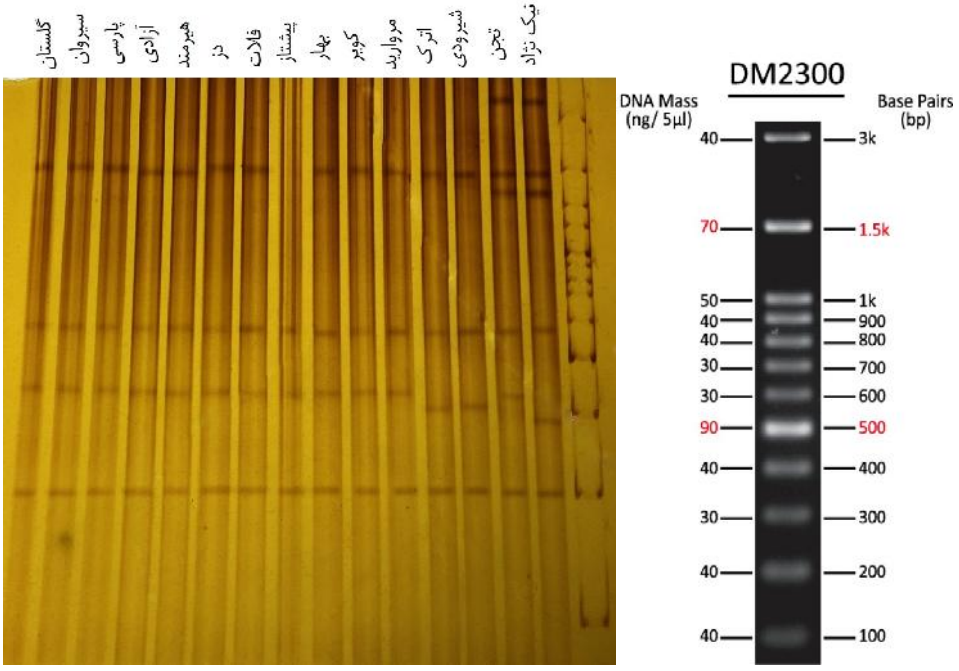
Table 7. SRAP primers used and amplification results between wheat cultivars

نام نشانگر	تعداد باند تولید شده	تعداد باند چند شکل	درصد باندهای چند شکل	محتوای اطلاعات چند شکل (PIC)
SRAP 1	۸	۵	۶۲/۵	۰/۱۱۸
SRAP 2	۱۱	۳	۲۷/۲۷	۰/۳۹۴۲

جدول ۸- ماتریس تشابه به روش جاکارد بین ارقام گندم مورد مطالعه

Table 8. Jaccard similarity matrix method

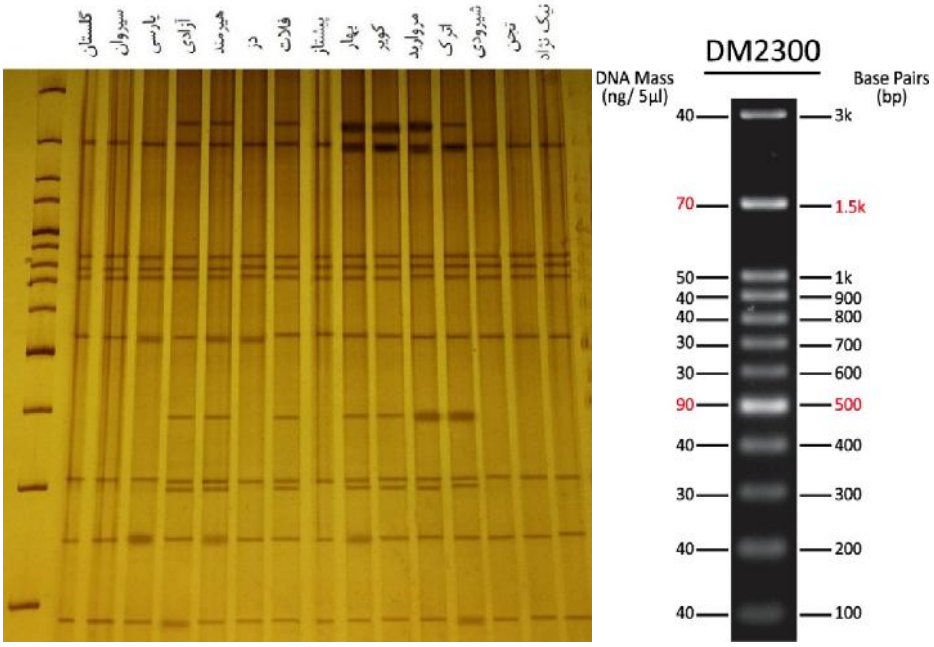
	گلستان	سیروان	پارسی	آزادی	هیرمند	دز	فلات	پیشتاز	بهار	کویر	مروارید	اترک	شیرودی	تجن	نیک‌نژاد
گلستان	۱														
سیروان	۱	۱													
پارسی	۱	۱	۱												
آزادی	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۱											
هیرمند	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۱	۱										
دز	۱	۱	۱	۰/۸	۰/۸	۱									
فلات	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۱	۱	۰/۸	۱								
پیشتاز	۱	۱	۱	۰/۸	۰/۸	۱	۰/۸	۱							
بهار	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۱	۱	۰/۸	۱	۰/۸	۱						
کویر	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۱	۱	۰/۸	۱	۰/۸	۱	۱					
مروارید	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۱	۱	۰/۸	۱	۰/۸	۱	۱	۱				
اترک	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۶۹	۰/۸۸	۰/۶۹	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۸۸	۱			
شیرودی	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۸۵	۰/۶۹	۰/۸۵	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۸۵	۱		
تجن	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۷	۰/۷	۰/۸۵	۰/۷	۰/۸۵	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۶	۰/۸	۱	
نیک نژاد	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۶	۰/۶	۰/۷	۰/۶	۰/۷	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۷	۰/۸۶	۱



شکل ۲- الگوی باندی حاصل از تکثیر بوسیله نشانگر SRAP1، ExcelBand 100 bp+3k DNA Ladder

Figure 2. Banding pattern of the amplified using SRAP1 marker

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]



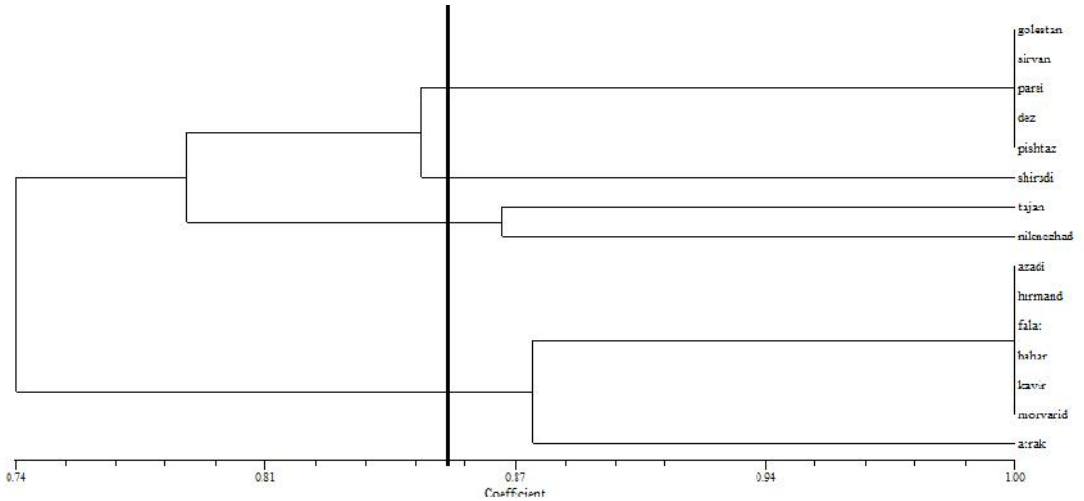
شکل ۳- الگوی باندی حاصل از تکثیر بوسیله نشانگر SRAP2، ExcelBand 100 bp+3k DNA Ladder
Figure 3. Banding pattern of the amplified using SRAP2 marker

دلیل استفاده از توالی CCGG در آغازگر رفت، حضور اگزون‌ها در ناحیه ORF و غنی بودن اگزون‌ها از بازهای گوانین و سیتوزین است (۲۱) از آنجایی که اگزون‌ها جزء توالی‌های حفاظت شده بشمار می‌آیند (۲۲) بنابراین در صورت استفاده از آنها به عنوان تنها منابع نشانگری، سطح پایینی از چندشکلی را نشان خواهند داد. لی و کیروس (۲۱) برای مقابله با این مشکل بالقوه توالی نوکلئوتیدی AATT را با توجه به اینکه ناحیه نزدیک به انتهای '۳ غنی از بازهای AT است، در توالی آغازگر دیگر قرار دادند. با توجه به اینکه نواحی راه‌انداز و اینترون غنی از بازهای AT هستند و از طرفی در بین افراد مختلف متفاوت هستند بنابراین این عدم تشابه ذاتی بین اینترون‌ها و اگزون‌ها می‌تواند منجر به شکل‌گیری چندشکلی بیشتر شود. نتایج تکثیر باندها توسط نشانگر SRAP در جدول ۷ آمده است.

آنالیز نتایج ژل‌های پلی‌آکریل آمید با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.2 و گروه‌بندی با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب تشابه جاکارد (بدلیل بالاترین ضریب کوفنتیک) و روش UPGMA ژنوتیپ‌ها را در چهار دسته گروه‌بندی کرد (شکل ۴). برای تعیین خط برش از روش 2D پلات استفاده شد. در گروه اول ارقام گلستان، سیروان، پارسی، دز و پیشتاز قرار گرفتند. در گروه دوم رقم شیرودی به تنهایی قرار گرفت، در گروه سوم ارقام تجن و نیک نژاد و در گروه چهارم عمده ارقام شامل آزادی، هیرمند، فلات، بهار، کویر، مروارید و اترک قرار گرفتند. با توجه به گزارش موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (۳۹) ارقامی که در گروه یک قرار گرفتند از نظر صفت کیفیت نانوایی، بجز رقم دز عمدتا شامل ارقامی با کیفیت نانوایی خوب بودند. در گروه دوم رقم شیرودی قرار گرفت که بعنوان رقمی با کیفیت نانوایی ضعیف معرفی شده است. در گروه سوم دو رقم با کیفیت نانوایی خوب و در نهایت در گروه چهارم عمدتا ارقامی با کیفیت نانوایی متوسط و ضعیف قرار گرفتند. نتایج حاصل تا حدودی توانست ارقام را از نظر صفت کیفیت نانوایی در گروه‌های مجزا قرار دهد و این نشان می‌دهد که طراحی نشانگرهای SRAP با در نظر گرفتن موتیف‌های تکراری و حفاظت شده در ناحیه تکراری در LMW-GSها به عنوان توالی‌های اختصاصی تا حدودی توانسته است ارقام با کیفیت نانوایی ضعیف را از ارقام با کیفیت خوب تفکیک کند و این اهمیت توالی‌های حفاظت شده را در صفت کیفیت نانوایی نشان می‌دهد. بزرگمهر و همکاران (۶) تعداد سیستئین و طول نواحی تکراری را به عنوان دو عامل موثر در کیفیت معرفی کردند.

همچنین ژو و همکاران (۴۸) ژن LMW جدید به نام XYGLUD3-LMW (AY263369) را از گندم نان همسانه‌سازی کردند. نتایج نشان داد که پروتئین‌های حاصل از این ژن دارای ۹ اسید آمینه سیستئین است در حالی که در اکثر ژن‌های شناخته شده هشت اسید آمینه سیستئین وجود دارد. آزمایش‌های تکمیلی نشان داد که این اسید آمینه سیستئین اضافی بطور معنی‌داری باعث افزایش خصوصیات کیفی LMW شده است.

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]



شکل ۴- دندروگرام پانزده رقم گندم نان بر اساس ضریب تشابه Jaccard و با استفاده از روش UPGMA
Figure 4. Dendrogram based on Jaccard coefficient using UPGMA method

صادقی و همکاران (۳۸) در تحقیقی به بررسی روابط علت و معلولی خواص وابسته به کیفیت نانوایی گندم نان پرداختند. در این مطالعه تعداد ۱۴ صفت وابسته به خواص نانوایی گندم مورد ارزیابی قرار گرفتند و نتیجه تجزیه واریانس ساده صفات اندازه‌گیری شده نشان از معنی‌دار بودن آن‌ها در سطح یک درصد بود. در بررسی همبستگی خصوصیات وابسته به کیفیت نانوایی صفات درصد پروتئین دانه، سختی دانه، درصد گلوتن تر، حجم نان، درصد جذب آب آرد و حجم رسوب زلنی و SDS همبستگی‌های مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد نشان دادند. بزرگمهر و همکاران (۶) در طی تحقیقی نشان دادند که تنوع قابل ملاحظه‌ای در لاین‌های بومی گندم نان و دوروم ایران وجود دارد. این تنوع به عنوان منبع با ارزش تنوع آللی در برنامه‌های اصلاحی و به منظور بهبود کیفیت (با توجه به تعیین تعداد سیستئین و طول نواحی تکراری، دو عامل موثر در تعیین کیفیت پروتئین) محصولات نهایی حاصل از گندم نان و دوروم قابل استفاده است. اندازه‌گیری میزان پروتئین، سختی دانه، وزن هزار دانه، و همچنین آزمون‌های فارینوگراف، میکسووگراف، آلوووگراف و اسپکتروسوکوپی انعکاسی نور مادون قرمز (NIR)، از روش‌های غیر مستقیم برای تعیین کیفیت نانوایی ارقام گندم می‌باشند (۴۵). میزان پروتئین دانه به رقم، شرایط آب و هوایی و غیره وابسته است (۱۷). کیفیت آرد و پخت نان در یک رقم گندم، صفتی پیچیده و تحت تاثیر عوامل متعدد محیطی و ژنتیکی است. تعادل بین ترکیبات مختلف مانند نشاسته، پروتئین، چربی‌ها، گلوتن، عدد زلنی، آب و تداخل بین این ترکیبات تعیین کننده کیفیت یک رقم هستند (۱۹). نتایج مقایسه دندروگرام داده‌های مورفولوژیک با دندروگرام حاصل از داده‌های نشانگرهای SRAP نشان داد که در بعضی از موارد بین این دندروگرام و گروه‌بندی‌ها تشابه وجود دارد. به عنوان مثال در هر دو دندروگرام ارقام گلستان و پارسی، آزادی و بهار در یک گروه قرار گرفتند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد، علاوه بر عوامل مهم تاثیرگذار در صفت کیفیت نانوایی از جمله میزان گلوتن دانه، درصد پروتئین، رسوب SDS، رسوب زلنی، زمان توسعه خمیر، عدد ولوریمتری و عدد کیفی فارینوگراف و سایر عوامل می‌توان طول موتیف‌های حفاظت شده در نواحی تکراری در ساختار LMW-GSها و افزایش یا کاهش طول آنها را به‌عنوان فاکتور مهم دیگری در سنجش کیفیت نانوایی مورد ارزیابی قرار داد. چنانچه در تحقیق حاضر طراحی آغازگر با در نظر گرفتن این موتیف‌ها تا حدی توانست ارقام با کیفیت خوب، متوسط و ضعیف را از یکدیگر تفکیک کند.

منابع

1. Aghaee-Sarbaze, M. 2012. Agronomic Traits in Durum wheat variety. Journal of Seed and Plant Improvement, 1(3): 481-502 (In Persian).
2. Alvin, C.R. and F.C. William. 1995. Methods of multivariate analysis. Wiley press. 800 w.
3. Arzani, A. 1999. Breeding of crop plants. Isfahan University Press. 320 w.
4. Babae Zarrch, M., M. Fatookian and S. Mahmudi. 2013. Assessment of genetic diversity morphological traits wheat using multivariate. Journal of plant breeding agricultural, 5(1) (In Persian).
5. Bahrae, C. 2003. Iranian bread wheat quality assessment based on glutenin subunits heavy. Journal of Crop Science, 5: 3-17 (In Persian).
6. Bozorgmehr, A., J. Ahmadi, F. Shahinnia, Kh. Razavi, G. Njafian and T. Lohrasebi. 2014. Evaluation of allelic variation for low molecular weight glutenin subunits using DNA specific markers in wheat landraces. Journal of Modern Genetics, 9(4): 439-450 (In Persian).
7. Cassidy, B.G., J. Dvorak and O.D. Anderson. 1998. The wheat low molecular weight glutenin genes: characterization of six new genes and progress in understanding gene family structure. Theoretical and Applied Genetics, 96: 743-750.

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

8. Collaku, A. and S.A. Harrison. 2002. Losses in wheat due to water logging. Crop Science, 42: 444-450.
9. D'Ovidio, R., C. Marchitelli, L. Ercoli Cardelli and E. Porceddu. 1999. Sequence similarity between allelic Glu-B3 genes related to quality properties of durum wheat. Theoretical and Applied Genetics, 98: 455-461.
10. D'ovidio, R. and S.M. Masci. 2004. The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. Journal of Cereal Science, 39(1): 321-339.
11. Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemistry Bulletin, 19: 11-15.
12. Farahani, A. and A. Arzani. 2006. The study of genetic diversity among durum wheat and F1 generation using agronomic traits. Journal of Agriculture, 4: 341-354 (In Persian).
13. Fernando, R., R. Cuillenportal, N. Obert, S. Qingwnxueaudkent and M. Eskridge. 2006. Compensatory mechanisms associated with the effect of spring wheat seed size and wild oat competition. Crop Science, 46: 935-945.
14. Gill, B.S., R. Appels, A.M. Botha-Oberholster, C.R. Buell, J.L. Bennetzen, B. Chalhoub and B. Keller. 2004. A workshop report on wheat genome sequencing international genome research on wheat consortium. Genetics, 168(2): 1087-1096.
15. Halajian, M. and B. Naserian. 2007. Review and compare amino acid sequences x and y types glutenin subunits loci 1 D controller bread quality wheat. 12th Iranian Biotechnology Conference, Tehran.
16. Harberd, N.P., D. Bartels and R.D. Thompson. 1985. Analysis of the gliadin multigene loci in bread wheat using nullisomic-tetrasomic lines. Molecular and General Genetics, 198: 234-242.
17. Iran-Nejad, H. and N. Shahbaziyan. 2005. Cereal cultivation. Wheat. Karenoo Publications.Tehran, Iran, 272 pp (In Persian).
18. Jackson, E.A., L.M. Holt and P.I. Payne. 1983. Characterisation of high molecular weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localization of their controlling genes. Theoretical and Applied Genetics, 66: 29-37.
19. Johansson, E., G. Svensson and W.K. Heneen. 1998. Genotype and environmental effect on factors influencing bread-making quality. In: A. E. Slinkard ed. Proc. 9th Intl. Wheat Genetics Symp, 4: 175-177.
20. Lee, M. 1995. DNA markers and plant breeding programs. Advances in Agronomy, 55:265-344.
21. Li, G. and C.F. Quiros. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. Theoretical and Applied Genetics, 103: 455-461.
22. Li, W., Z. Gao, Y. M. Wei, Z. E. Pu, G. Y. Chen, Y. X. Liu, H. P. Chen, X. J. Lan and Y. L. Zheng. 2012. Genetic variations of m-type LMW-GS genes and their associations with dough quality in *Triticum turgidum* ssp. *Turgidum* landraces from China. African Journal of Agricultural Research, 7: 2025-2033.
23. Lin X., S. Kaul, S. Rounsley, T. Shea and M.I. Benito. 1999. Sequence and analysis of chromosome 2 of the plant *Arabidopsis thaliana*. Nature, 402: 761-767.
24. Martinek, P., M. Vinterova, I. Burešová and T. Vyhnanek. 2008. Agronomic and quality characteristics of triticale (X Triticosecale Wittmack) with HMW glutenin subunits 5+10. Journal of Cereal Science, 47(1): 68-78.
25. Masci, S., D. Lafiandra, E. Porceddu, E.J.L. Lew, H.P. Tao, D.D. Kasarda. 1993. D-glutenin subunits: N-terminal sequences and evidence for the presence of cysteine. Cereal Chemistry, 70: 581-585.
26. Masci, S., E.J.L. Lew, D. Lafiandra, E. Porceddu and D.D. Kasarda. 1995. Characterization of low-molecular-weight glutenin subunits in durum wheat by RP-HPLC and N-terminal sequencing. Cereal Chemistry, 72: 100-104.
27. Masci, S., L. Rovelli, D.D. Kasarda, W.H. Vensel and D. Lafiandra. 2002. Characterisation and chromosomal localization of C-type low molecular- weight glutenin subunits in the bread wheat cultivar Chinese Spring. Theoretical and Applied Genetics, 104: 422-428.
28. Mirakhoondi, N. 2001. Study of Variation of Quantitative Traits and Their relationships with yield under drought conditions and irrigation and the best indicator of drought tolerance in durum wheat. Master's Thesis. School of Agriculture. University of Tehran. Karaj, Iran (In Persian).
29. Mousavi shabestari, M. 2007. Check wheat yield in 21 cold areas. Master's Thesis. Islamic Azad University, Tabriz, Iran (In Persian).
30. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 70: 3321-3323.
31. Pahlevani, S., A. Izanloo, S. Parsa and M.GH. Ghaderi. 2016. Association between grain quality traits and SSR molecular markers in some bread wheat genotypes. Journal of Crop Breeding, 8(19): 25-36 (In Persian).
32. Payne, P.I., E.A. Jackson, L.M. Holt. 1984. The association between ggliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties. A direct causal effect on the result of genetic linkage. Journal of Cereal Science, 2: 73-81.

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

33. Payne, P.I., L.M. Holt, M.G. Jarvis and E.A. Jackson. 1985. Twodimensional fractionation of the endosperm proteins of bread wheat (Triticum aestivum): biochemical and genetic studies. Cereal Chemistry, 62: 319-326.
34. Quiros, C.F., F. Grellet, J. Sadowsk, T. Suzuki, G. Li and T. Wroblewski. 2001. *Arabidopsis* and *Brassica* comparative genomics: sequence, structure and gene content in the *ABI1-Rps2-Ck1* chromosomal segment and related regions. Genetics.
35. Rafalski, J.A., J.M. Vogel, M. Morgante, W. Powell, C. Andre and S. Tingey. 1996. Non-mammalian genome analysis: a practical guide. Academic Press, New York, 75-134.
36. Rashidi, V., A. Majidi, V. Mohammadisa and M. Moghadam Vahed. 2007. Determine the genetic relationships of durum wheat lines by cluster analysis and identify morphological traits each group. Journal of Iran Agricultural Sciences, 13(2): 439-450 (In Persian).
37. Sabelli, P. and P.R. Shewry. 1991. Characterization and organization of gene families at the Gli-1 loci of bread and durum wheat. Theoretical and Applied Genetics, 83: 428-434.
38. Sadeghi, F. and H. Dehghani. 2016. Study of correlation coefficients and factors analysis of bread making quality attributes in bread wheat. Journal of Crop Breeding, 8(19): 1-8 (In Persian).
39. Seed and Plant Improvement Institute. 2015. Introduced cultivars food security and health, volume 1. Agricultural Extension and Education Research Organization (In Persian).
40. Shafaedin, S. and B. Yazdi Samadi. 1994. Genetic diversity and geographic wheat mills native to Central Iran. Journal of Iran Agricultural Sciences, 25: 61-77 (In Persian).
41. Shahid Masood, M., A. Javaid, M. Ashiq Rabbani and R. Anwar. 2005. Phenotypic diversity and trait association in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) Landraces from Baluchistan, Pakistan. Pakistan Journal of Botany, 37(4): 949-957.
42. Shariat, F., S.A. Mohammadi, M. Norouzi and M. Valizadeh. 2015. Allelic diversity of low molecular weight glutenin subunit at *Glu-A3*, *Glu-B3* and *Glu-D3* loci in Iranian spring bread wheat landraces. Iranian Journal of Crop Sciences, 17(1): 74-87 (In Persian).
43. Shewry, P.R., N.G. Halford and A.S. Tatham. 1989. The high molecular weight subunits of wheat, barley and rye. In: Miflin, B.J., (Ed.), Genetics, Molecular Biology, Chemistry and Role in Wheat Gluten Structure and Functionality, Oxford Survey Plant Molecular and Cellular Biology, vol. 6. University Press, New York, 163-219.
44. Sidwell, R. J., E.L. Smith and R.W. Mcnew. 1975. Inheritance and interrelationships of grain yield and selected yield related traits in a hard red winter wheat cross. Crop Science, 16: 650-65.
45. Sissons, M.J., B. Osborne and S. Sissons. 2006. Application of near infrared reflectance spectroscopy to a durum wheat breeding programme. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 14: 17-25.
46. Toosi Mojarad, M. and M. Bihamta. 2007. Check wheat grain yield and other traits through by principal component. Journal of Agricultural Science, 2: 1-97 (In Persian).
47. Vaezi, S. 1999. Genetic diversity and geographic diversity index and quantitative local collection of durum wheat mills in Iran. Master's Thesis. School of Agriculture. University of Tehran. Karaj, Iran, (In Persian).
48. Xu H., R.J. Wang, X. Shen, Y.L. Zhao, G.L. Sun, H.X. Zhao and A.G. Guo. 2006. Functional properties of a new low molecular- weight glutenin subunit gene from a bread wheat cultivar. Theoretical and Applied Genetics, 113: 1295-1303.
49. Zhen, S., C. Han, C. Ma, A. Gu, M. Zhang, X. Shen, X. Li and Y. Yan. 2014. Deletion of the low-molecular-weight glutenin subunit allele Glu-A3a of wheat (*Triticum aestivum* L.) significantly reduces dough strength and breadmaking quality. BMC Plant Biology, 14: 367-384.

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]

Study of Morphological Traits and Genetic Diversity of low Molecular Wight-Glutenin Subunits in Some Bread Wheat Cultivars using SRAP Markers

Mohammad Parand[1], Ahad Yamchi[2], Hassan Soltanloo[3] and Khalil Zaynalinejad[4]

1, 3 and 4- PhD. Student in Nuclear Agriculture, Associate Professor and Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2- Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
(Corresponding author: yamchi@gau.ac.ir)
Received: April 19, 2017 Accepted: July 4, 2017

Abstract

Baking quality is one of the most important traits in wheat quality breeding. In the present study, allelic diversity of the genes encoding glutenin with low molecular weight (LMW-GS) was evaluated in 15 good, average and poor cultivars in term of baking quality using SRAP markers. Further, morphological traits, including 100-seed weight, spike number per plot, seed number per spike, plant height and spike length were investigated in order to identify possible correlation with molecular markers. In this experiment, two SRAP markers were designed based on repetitive region in LMW-GS. The ANOVA results of morphological traits revealed that all cultivars were differently at 0.01level. Additionally, the correlation analysis between grain yield and other morphological traits indicated a high correlation between yield and spike number per plot. In morphological traits, the cultivars were grouped in three cluster using WARD method and CCC plot cutoff. The product size ranged from 200 to 3000 bp and 90 to 2500 bp for SRAP1 and SRAP2 markers, respectively. In total, 19 bands were produced among the cultivars and polymorphic percentage was 42.1. SRAP2 produced the highest number of bands (11). Polymorphic information content (PIC) was 0.11 and 0.39 for SRAP1 and SRAP2 markers, respectively. Cluster analysis based on Jaccard's coefficient and UPGMA algorithm by NTSYS-pc 2.2 software related that the cultivars were allocated in four clusters. The results showed that SRAP marker could approximately group the cultivars according to baking trait and this classification can be compared with morphological data.

Keywords: Wheat Bread, Quality Bakery, Morphological traits, SRAP marker

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.38]