تنوع آللی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در برخی ارقام گندم نان با استفاده از نشانگرهای آلل اختصاصی

Allelic Variation of High Molecular Weight Glutenin Subunits in Some Bread Wheat Cultivars Using Allele-Specific Markers

علی ایزانلو[۱*]، سهیل پارسا[۱]، محمدقادر قادری[۱] و سمیه پهلوانی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۹/۰۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۷/۲۴

چکیده

پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم از مهم‌ترین عوامل موثر بر کیفیت دانه گندم می‌باشند. زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) نقش کلیدی را در شکل و ساختار گلوتن بازی می‌کنند و ارتباط تنگاتنگی با کیفیت گندم دارند. جهت بررسی تنوع آللی در مکان‌های ژنی کدکننده زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در ۲۵ رقم از گندم‌های نان ایرانی و استرالیایی، نه جفت آغازگر آلل اختصاصی برای مکان‌های ژنی (*Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1*) به‌کار گرفته شدند. نتایج نشان داد که برای مکان ژنی *Glu-A1*، سه آلل (*AxNull*، *Ax1* و *Ax2**) شناسایی گردیدند که در بین آن‌ها بیش‌ترین فراوانی مربوط به آلل *Ax2** با فراوانی ۵۶ درصد بود. برای مکان ژنی *Glu-B1* در مجموع شش آلل شناسایی شدند، که ترکیب آللی *Bx7+By8* با فراوانی ۳۲ درصد بیش‌ترین فراوانی را داشت. برای مکان ژنی *Glu-D1*، در مجموع دو آلل شناسایی شد که ترکیب آللی *Dx2+Dy12* با فراوانی ۸۲ درصد بیش‌ترین فراوانی را در بین آلل‌های شناسایی شده به خود اختصاص داد. در نهایت رتبه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس سیستم امتیازدهی پی‌فلاگر به‌منظور پیش‌بینی کیفیت پخت نان نشان داد که اکثر ژنوتیپ‌های مورد بررسی رتبه ۸، ۹ و ۱۰ را داشتند که نشان‌دهنده‌ی کیفیت پخت نان خوب تا عالی آن‌ها است. نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس زیرواحدهای مختلف نیز این ارقام با کیفیت بالا را در یک گروه مجزا قرار داد. از تنوع شناسایی شده در این پژوهش می‌توان به‌عنوان منبع با ارزش تنوع آللی در برنامه‌های اصلاحی گزینش به کمک نشانگر به‌منظور بهبود کیفیت محصولات نهایی حاصل از گندم بهره برد.

واژه‌های کلیدی: ترکیب آللی، گزینش به کمک نشانگر، کیفیت گندم

۱ و ۲. به‌ترتیب استادیاران و دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند

*: نویسنده مسوول Email: a.izanloo@birjand.ac.ir

مقدمه

پروتئین‌های ذخیره‌ای اندوسپرم دانه گندم از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر کیفیت محصول این گیاه استراتژیک محسوب می‌گردند. گلوتن یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه گندم است که باعث کشش‌پذیری و استحکام خمیر می‌گردد *لافیاندرا* و همکاران (Lafiandra *et al.*, 2000). پروتئین‌های گلوتن به دو گروه عمده گلوتنین و گلیادین تقسیم می‌شوند. گلیادین‌ها، پروتئین‌های مونومری کوچکی هستند که شامل زیر گروه‌های آلفا، بتا، گاما و امگا می‌باشند. این پروتئین‌ها ۵۰ درصد پرولامین‌ها را تشکیل می‌دهند *پین* و همکاران (Payne *et al.*, 1984). گلوتنین‌ها از زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا و پایین تشکیل یافته‌اند. اگرچه زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا تنها ۱۰ درصد پروتئین‌های ذخیره‌ای کل را در مقایسه با زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین (۴۰ درصد) تشکیل می‌دهند (*پین* و همکاران، 1984)، با این حال این زیرواحدها تأثیر بیشتری روی کیفیت نان می‌گذارند.

تاکنون مطالعات متعددی جهت درک ژنتیک و بیوشیمی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در گندم نان انجام شده است (*لافیاندرا* و همکاران، 2000). علاوه بر این مطالعات مختلفی همبستگی بین زیرواحدهای معینی از گلوتنین با وزن مولکولی بالا و کیفیت پخت نان را مشخص کرده‌اند *بحرایی* و همکاران (Bahraei *et al.*, 2004). زیرواحدهای پروتئینی با وزن مولکولی بالا، توسط مکان ژنی *Glu-1* واقع بر روی بازوی بلند کروموزوم‌های گروه ۱، کد می‌شوند که هر مکان شامل دو ژن کدکننده برای تیپ زیرواحدی نوع X و Y می‌باشد *شِوری* و همکاران (Shewry *et al.*, 1992). به‌دلیل اینکه این دو زیر واحد (X و Y) ممکن است که در مکان ژنی *Glu-1* تظاهر نیابند (برای مثال در مکان *Glu-A1* ممکن است تیپ Y و یا هر دو تیپ X و Y بیان نشوند)، لذا در واریته‌های گندم ۳ تا ۵ زیرواحد مشاهده می‌گردد.

حضور ترکیبات آللی متفاوت در زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در هر رقم گندم، مهم‌ترین فاکتور تعیین‌کننده کیفیت پخت نان می‌باشد. برای مثال واریته‌هایی از گندم که حاوی ترکیب آللی (*Dx5+Dy10*) در مکان *Glu-D1* می‌باشند، قدرت خمیر بالاتری نسبت به ارقام با ترکیب آللی (*Dx2+Dy12*) دارند (*پین* و همکاران، 1987). افزایش میزان پروتئین‌های *Dx5* و *Dy10* در گندم‌های تراریخت نیز منجر به افزایش پروتئین‌های پلیمری، افزایش زمان مخلوط و تحمل و پیک پایین مقاومت شد، به‌طوری‌که افزایش در محتوی *Dx5* در مقایسه با افزایش در *Dy10* اثرات بزرگتری بر اکثر پارامتر های کیفی داشت *بلچل* و همکاران (Blechl *et al.*, 2007).

شناسایی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا به‌منظور آگاهی از کیفیت ژنوتیپ‌های مورد استفاده در برنامه‌های اصلاحی کیفیت گندم نان دارای ارجحیت می‌باشد، زیرا تنوع زیادی در ترکیبات آللی میان واریته‌ها وجود دارد *ما* و همکاران (Ma *et al.*, 2003). مطالعات اولیه تنوع آللی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا توسط الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌امید سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) توسعه یافت *بیتز* و همکاران؛ *بریگل* و *کورتیس* (Bietz *et al.*, 1975; Briggle and Curtis, 1987)، که روشی مؤثر برای شناسایی زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا در لاین‌های متفاوت گندم می‌باشد. با این وجود، مشکلاتی در این روش وجود دارد که به‌کارگیری این روش محدود به استفاده از دانه گندم بوده و انتخاب لاین‌های اصلاحی نمی‌تواند در مزرعه قبل از برداشت انجام شود، در نتیجه تفسیر ژل روشی زمان‌بر خواهد بود. بنابراین، این روش برای تجزیه‌هایی با ظرفیت بالا و تعداد نمونه زیاد مناسب نمی‌باشد. هم‌چنین در این روش امکان تفکیک بین زیرواحدهای دارای وزن مولکولی بالا و حرکت یکسان بر روی ژل وجود ندارد. بنابراین دقت کافی را در تفکیک زیرواحدهای گلوتنین نخواهد داشت *بیوتو* و همکاران (Butow *et al.*, 2004).

در سال‌های اخیر، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) به‌عنوان رهیافتی کارآمد و قابل اطمینان به‌منظور انتخاب بسیاری از ژن‌ها با ویژگی‌های مطلوب استفاده شده است. گزارش‌های بسیاری نشان داده است که رهیافت مبتنی بر PCR روشی استاندارد برای شناسایی ژنوتیپ‌هایی از گندم با خصوصیات پخت نان خوب می‌باشد، هم‌چنین انتخاب به کمک نشانگر (MAS) می‌تواند مانع از تفسیر اشتباه نتایج به‌دست آمده از روش تجزیه SDS-PAGE شود *احمد*؛ *گیل* (Ahmad, 2000; Gale, 2004). *لی* و همکاران (Lei *et al.*, 2006) در توسعه نشانگرهای مولکولی برای شناسایی آلل‌های *Glu-B1*، پیشنهاد کردند که این نشانگرها منابع سودمندی برای گزینش آلل‌های مطلوب بدون نیاز به SDS-PAGE یا تجزیه HPLC برای اصلاح ارقام گندم با کیفیت بالا است.

نشان داده شده است که انتخاب به کمک نشانگر برای زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا ابزار ارزشمندی در برنامه‌های اصلاحی می‌باشد *اوتایاکوماران* و همکاران (Uthayakumaran *et al.*, 2006)، زیرا اطلاعات مربوط به کیفیت پخت نان می‌تواند در مراحل اولیه برنامه‌های اصلاحی

حاصل شود، بنابراین لاین‌های با کیفیت پایین گسترش نخواهند یافت.

گزینش به کمک نشانگرهای مولکولی، آلل‌های گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پایین به‌طور گسترده توسط برنامه‌های اصلاحی در سرتاسر جهان به‌منظور انتخاب برای بهبود خصوصیات خمیر انجام می‌شود *کوکل* و همکاران (Kuchel *et al.*, 2007). گزینش به کمک نشانگر می‌تواند پیشرفت ژنتیکی و سودمندی اقتصادی را در استراتژی‌های خاص اصلاحی افزایش دهد. در مطالعه‌ای که از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR به‌منظور شناسایی زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا *Glu1Bx7* و *Glu1Bx17* استفاده شد، مشخص گردید که نشانگر *cauBx67* با ایجاد چندشکلی در حد ۱۸ جفت باز قادر به تفکیک این دو زیرواحد در ارقام گندم می‌باشد (*بیوتو* و همکاران، 2003). *لیو* و همکاران (Liu *et al.*, 2008) در مطالعات خود به هدف بررسی تنوع ژنتیکی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا، نشانگرهای مولکولی اختصاصی جدیدی را شناسایی نمودند. این نشانگرها هم‌بارز بوده و برای گزینش به کمک نشانگر، در مکان‌های ژنی *Glu-A1* و *Glu-D1* مناسب هستند (*لیو* و همکاران، 2008). *کوکورکوا* و همکاران (Kocourkova *et al.*, 2008) از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR به‌منظور بهبود کیفیت پخت نان در برنامه‌های اصلاحی گندم استفاده نمودند. آنها زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا را در نسل‌های F_2 و F_7 به‌دست آمده از تلاقی بین واریته‌های گندم Sulamit و Clever مورد بررسی قرار دادند. آنها آلل‌های *AxNull* و *Ax1* را در مکان ژنی *Glu-A1*، آلل‌های *Bx6+By8* و *Bx17+By18* را در مکان *Glu-B1* و در مکان ژنی *Glu-D1* آلل‌های *Dx5+Dy10* و *Dx2+Dy12* را گزارش نمودند. نتایج آن‌ها هم‌چنین تفاوت معنی‌دار آماری را در سهم آلل‌های زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا بر خصوصیات کیفی دانه نشان داد. به‌طورکلی، آن‌ها آلل‌های *Ax1*، *Bx17+By18* و *Dx5+Dy10* را به‌عنوان نشانگرهای مرتبط با کیفیت پخت خوب پیشنهاد نمودند.

هدف از اجرای این تحقیق تعیین ژنوتیپ ۲۵ رقم گندم نان سازگار با آب و هوای خشک و نیمه‌خشک برای زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در سه مکان ژنی *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* و به دنبال آن، شناسایی ژنوتیپ‌های برتر جهت استفاده به‌عنوان والدهای با کیفیت مطلوب در برنامه‌های به‌نژادی گزینش به کمک نشانگر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۲۲ رقم گندم نان رایج کشت در مناطق خشک و نیمه‌خشک به همراه سه رقم کوکری، اسکلیبر و گلادیوس از کیفیت نانوایی بالایی برخوردار بوده و هم‌چنین مقاومت نسبی مطلوبی را به شرایط تنش خشکی دارند *فلوری* و همکاران (Fleury *et al.*, 2010) به‌عنوان ذخایر ژنتیکی بالقوه در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

استخراج DNAی ژنومی طبق روش سریع و کارآمد *پالوتا* و همکاران (Pallotta *et al.*, 2003) با اندکی تغییرات در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند به شرح زیر انجام شد. حدود یک یا دو برگ تازه از گیاهچه‌های دو هفته‌ای برداشت و در حضور ازت مایع به‌خوبی پودر گردید، سپس به تیوب‌های اپندورف ۲ میلی‌لیتری حاوی ۶۰۰ میکرولیتر بافر استخراج (Tris-HCl pH= ۷/۵, ۰/۱ مولار، EDTA pH= ۸/۰ ۰/۰۵ مولار، SDS ۱/۲۵٪) منتقل و به‌خوبی مخلوط شدند. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۵°C انکوبه گردیدند. به‌دنبال رساندن دمای نمونه‌ها به دمای اتاق، به هریک از نمونه‌ها ۲۵۰ میکرولیتر استات آمونیوم ۶ مولار سرد شده اضافه شد سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در یخچال نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به‌خوبی مخلوط و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردیدند. حدود ۶۰۰ میکرولیتر از مایع بالایی به‌تیوب جدید حاوی ۳۶۰ میکرولیتر ایزوپروپانول خنک منتقل گردید و نمونه‌ها به‌خوبی و به آرامی با هم مخلوط شدند و برای رسوب بهتر DNA، نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در یخچال نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شده، بخش آبکی دور ریخته شد. پلیت DNA با اضافه کردن ۳۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰٪ شستشو داده شد، سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. پلیت DNA به‌خوبی خشک گردید و با اضافه کردن ۴۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر دیونیزه استریل به‌صورت محلول درآمد. کمیت و کیفیت DNA با استفاده از روش اسپکتروفتومتری توسط دستگاه نانودراپ (NanoDrop 2000, Thermo Scientific) و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد.

به‌منظور تکثیر قطعات DNA، از نه جفت آغازگر آلل اختصاصی استفاده گردید (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۲۵ میکرولیتر با اجزای، ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو (۱ میکرولیتر)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر (۰/۴ پیکومول) و ۱۲/۵ میکرولیتر PCR MasterMix (تهیه شده از شرکت سیناکلون)، و مابقی آب دیونیزه دوبار تقطیر انجام شد.

چرخه‌های حرارتی شامل واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵°C به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۷ چرخه با واسرشته‌سازی در دمای ۹۵°C به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۶۵°C-۵۵، بسته به دمای اتصال نشانگرها (جدول ۲)، به‌مدت ۳۰ ثانیه و بسط در دمای ۷۲°C به‌مدت ۱ دقیقه و نهایتاً یک چرخه بسط نهایی به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای۷۲°C بود. شرایط واکنش دوپلکس PCR برای جفت آغازگرهای cauBx752 و cauBx642 بدین صورت بود که شرایط چرخه‌های حرارتی بهینه شامل یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵°C به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه با واسرشته‌سازی در دمای ۹۴°C به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۸°C به‌مدت ۳۰ ثانیه و بسط در دمای ۷۲°C به‌مدت ۲ دقیقه و۳۰ ثانیه و نهایتاً یک چرخه بسط نهایی به‌مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲°C بود. جداسازی محصولات تکثیری با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۸ درصد انجام و رنگ‌آمیزی با استفاده از اتیدیوم بروماید صورت گرفت.

جدول ۱: لیست و شجره ارقام گندم مورد مطالعه

Table 1: The list and pedigree of the studied wheat cultivars

شماره Number	نام ژنوتیپ Genotype Name		شجره Pedigree
1	الموت	Alamot	KVZ/Ti71/3/Maya"S"//Bb/Inia/4/Kjz/5/Anza/3/pi/Ndr//Hys
2	الوند	Alvand	1-27-6275×Cf 1770
3	آذر۲	Azar2	Kvz/Ym71/3/Maya"S"//Bb/Inia with sardari
4	بزوستایا	Bezostaja	Bezostaya
5	هیرمند	Hirmand	Byt/4/Yar//Cfn/Sr70/3/Yup"S"
6	قدس	Qouds	Rsh/s/wt/4/Nor10/k54*2 //fn/3/ptr/6/omid//kal/Bb
7	نیک‌نژاد	Niknejad	F13471/crow"S"
8	شعله	Shole	Landrace-Iraq
9	کرج۳	Karaj3	(Drc*Mxp/Son64*Tzpp-Y54) Nai60-Iran
10	اکبری	Akbari	Akbari
11	داراب۲	Darab2	Mays"S"/Nac
12	کویر	Kavir	(stm/kal/v534/jit716)
13	هامون	Hamon	(Falat/Roshan)(seri 82)
14	روشن	Roshan	انتخابی از توده‌های بومی اصفهان
15	رسول	Rasol	Veery"s"=KVz/Bubo"s"//kal/Bb
16	شاهپسند	Shahpasand	Landrace-Saveh-Iran
17	پیشتاز	Pishtaz	(Aldan/Ias58/Alvand)
18	استار	Star	Star swm 7215
19	وریناک	Verinak	(Veery/Nacozari)
20	اترک	Atrak	Kauz"s"
21	شیراز	Shiraz	GV/D630//ALD"s"/3/Azd
22	زرین	Zarin	Pk15841
23	کوکری	Kukri	RAC177/‘Monoculm’//RAC311S
24	اسکلیبر	Excalibure	76ECN44/76ECN36//MADDEN/6*RAC177
25	گلادیوس	Gladious	RAC875/Krichauff//Excalibur/Kukri/3/RAC875/Krichauff/4/pedigreeRAC875//Excalibur/Kukri

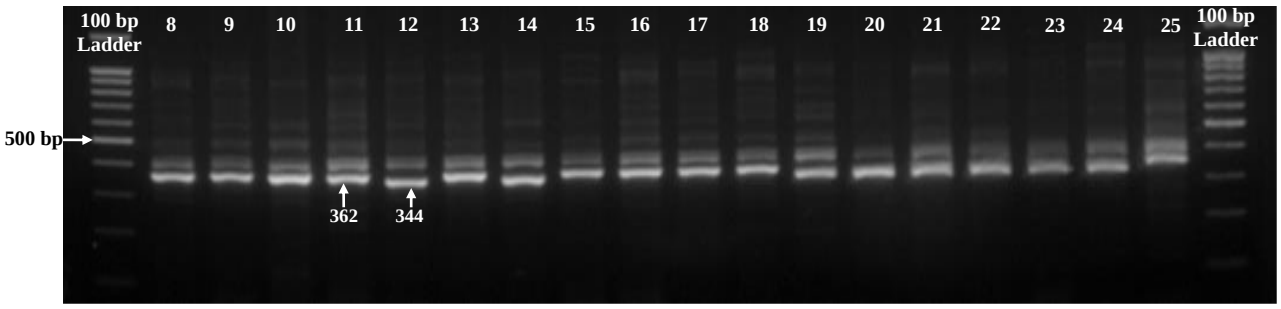
نام‌گذاری زیرواحدها و آلل‌های کنترل‌کننده آن‌ها در هر مکان ژنی *Glu-1* طبق مطالعات و بررسی‌های انجام شده (جدول ۲) در کلیه ارقام انجام گردید. رتبه کیفی مورد انتظار برای هر ژنوتیپ توسط سیستم امتیازدهی *پی‌فلاگر* (Pfluger, 1995) محاسبه شد، که در این سیستم به جایگاه‌های ژنی زیرواحدهای با وزن مولکولی بالای گلوتنین شامل *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* براساس ارزش آن‌ها امتیاز مشخصی تعلق می‌گیرد، به‌طوری‌که، در مکان ژنی *Glu-A1*، ارقامی که دارای زیرواحدهای *Ax1* و *Ax2** هستند امتیاز ۳ و ارقامی که در این مکان ژنی دارای *AxNull* باشند امتیاز ۱ خواهند گرفت. در مکان ژنی *Glu*-B1، ترکیبات آللی *Bx17+By18*، *Bx7+By8* و *Bx13+By16* امتیاز ۳، ترکیب آللی *Bx7+By9* در این مکان ژنی امتیاز ۲ و ارقامی که آل‌های *Bx7*، *Bx6+By8* و *By20* داشته باشند، امتیاز ۱ می‌گیرند. اما در مکان ژنی *Glu-D1*، ارقامی که ترکیب آللی *Dx5+Dy10* را داشته باشند، امتیاز ۴ آن‌هایی که ترکیب آللی *Dx2+Dy12* را داشته باشند امتیاز ۲ خواهند گرفت. در نهایت، امتیاز ژنومی ژنوتیپ‌ها از جمع آن‌ها محاسبه می‌شود.

تجزیه خوشه‌ای ارقام گندم مورد مطالعه با استفاده از ضریب تطابق ساده برای زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و الگوریتم لینکاژ بین گروهی توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد.

نتایج و بحث

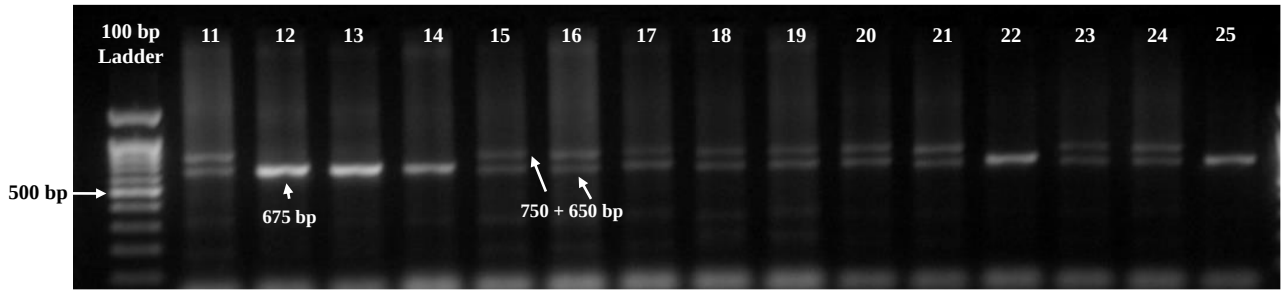
ترکیب آللی در مکان ژنی *Glu-A1*

در مجموع به‌وسیله یک جفت آغازگر اختصاصی (UMN19) که برای مکان ژنی *Glu-A1* به‌کار گرفته شده بود، سه آلل شناسایی گردید (شکل ۱). این نشانگر دو نوار متفاوت را نشان داد که به‌ترتیب قطعه ۳۴۴ و ۳۶۲ جفت باز را برای ژنوتیپ‌های حاوی آلل‌های *Ax2** و *Ax1* یا *AxNull* تکثیر کرد. بین دو آلل زیرواحد Ax تفاوتی به اندازه ۲۷ جفت باز قبلاً گزارش شده است (*لیو* و همکاران، 2008). در مکان ژنی *Glu-A1* آلل‌های *AxNull*، *Ax2** و *Ax1* به‌ترتیب دارای فراوانی‌های ۳۲، ۵۶ و ۱۲ درصد بودند. نتایج حاصل از ژل SDS-PAGE برای این ارقام نیز این نتایج را تأیید می‌نماید *قریشی* و همکاران (Ghoreishi *et al.*, 2014). *کیهانی* و همکاران (Keyhani *et al.*, 2015) با بررسی ۱۵۴ نمونه گندم بومی ایرانی توسط نشانگرهای مولکولی اختصاصی برای این مکان ژنی نیز سه آلل *AxNull*، *Ax2** و *Ax1* را به‌ترتیب با فراوانی ۸۸، ۵/۱ و ۶/۴ درصد گزارش کردند. *یزدی دربندی* و همکاران (Izadi-Darbandi *et al.*, 2010) بیان داشتند که اکثر ارقام گندم ایرانی دارای آلل *AxNull* در مکان ژنی Glu-A1 هستند. درحالی‌که، *مهرآذر* و همکاران (Mehrazar *et al.*, 2013) آلل‌های *Ax2**، *AxNull* و *Ax1* را به‌ترتیب در ۴۵، ۳۵ و ۲۰ درصد از ارقام مورد مطالعه گزارش کردند که با یافته‌های این تحقیق مطابقت داشت. *نجفیان* و *بقایی* (Najafian and Baghai, 2011) در مطالعات خود فراوانی آلل‌های *AxNull*، *Ax2** و *Ax1* را به‌ترتیب ۳۹/۶، ۴۲ و ۱۸/۳ درصد گزارش کرده‌اند. برتری اثر کیفیت آلل‌های *Ax2** و *Ax1* نسبت به آلل *AxNull* در تحقیقات زیادی گزارش شده است (پین و همکاران، 1984؛ *حق‌پرست* و همکاران، 2009؛ *نجفیان* و همکاران، 1997؛ 2008). در ارتباط با این موضوع بهتر است ژنوتیپ‌هایی مورد گزینش واقع شوند که در این مکان ژنی یکی از دو آلل *Ax1* یا *Ax2** را داشته باشند.



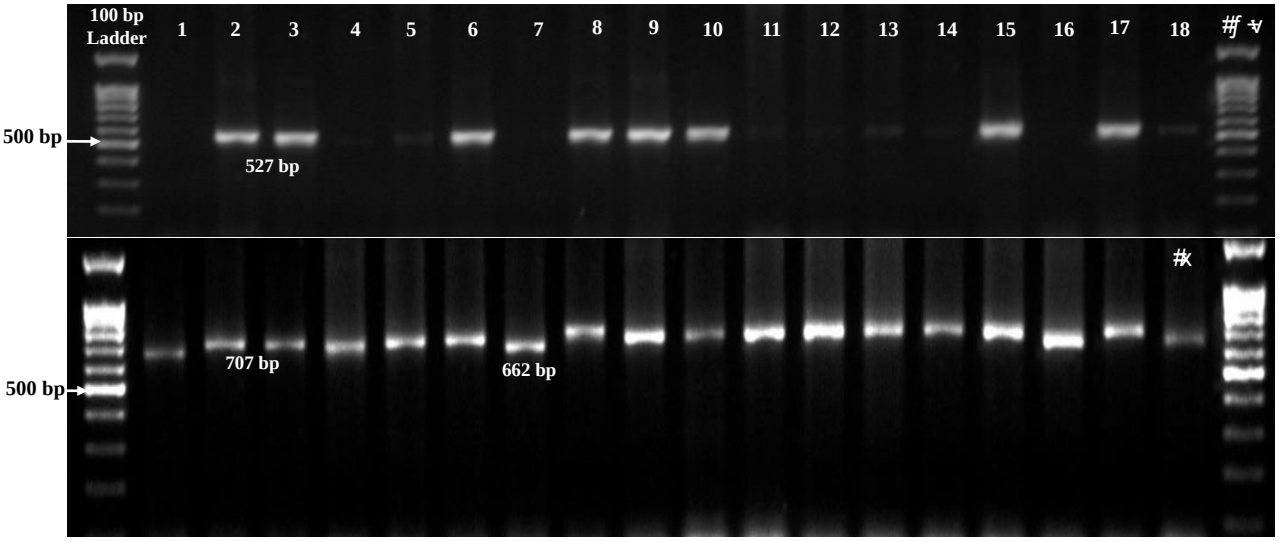
شکل ۱: الگوی نواری ایجاد شده توسط نشانگر UMN19. نوار ۳۴۴ جفت بازی مربوط به آلل *Ax2** و نوار ۳۶۲ جفت بازی مربوط به آلل *AxNull* یا *Ax1* می‌باشد. کد رقم از ۸ تا ۲۵ به‌ترتیب شامل ارقام شعله، کرج۳، اکبری، داراب۲، کویر، هامون، روشن، رسول، شاهپسند، پیشتاز، استار، ورییناک، اترک، شیراز، زرین، کوکری، اسکلیبر و گلادیوس می‌باشند

Fig. 1: The produced banding pattern of UMN19 marker. 344 bp band representing *Ax2** allele, and 362 bp band showing *Ax1* or *AxNull* allele. The cultivar code from 8 to 25 including Shole, Karaj3, Akbari, Darab2, Kavir, Hamon, Roshan, Rasol, Shahpasand, Pishtaz, Star, Verinak, Atrak, Shiraz, Zarin, Kukri, Excalibure and Gladious, respectively



شکل ۲: الگوی نواری ایجاد شده برای نشانگر Bx67 در مکان ژنی *Glu*-B1. تک نوار ۶۷۵ جفت بازی مربوط به آلل Bx17 می‌باشد، دو نوار ۶۵۰ و ۷۵۰ جفت باز مربوط به آلل $Bx7^{*}$ و دو نوار ۶۷۰ و ۷۷۰ جفت باز مربوط به آلل $Bx7^{CD}$ می‌باشد. کد رقم از ۱۱ تا ۲۵ به‌ترتیب شامل ارقام داراب۲، کویر، هامون، روشن، رسول، شاهپسند، پیشتاز، استار، وریناک، اترک، شیراز، زرین، کوکری، اسکلیبر و گلادیوس می‌باشند

Fig. 2: The produced banding pattern of Bx67 marker at the *Glu*-B1 locus. A band of 675 bp for *Bx17* allele, two bands of 650 bp and 750 bp for $Bx7^{*}$ allele and two bands of 670 bp and 770 bp for $Bx7^{CD}$ allele. The cultivar code from 11 to 25 are Darab2, Kavir, Hamon, Roshan, Rasol, Shahpasand, Pishtaz, Star, Verinak, Atrak, Shiraz, Zarin, Kukri, Excalibure and Gladious, respectively



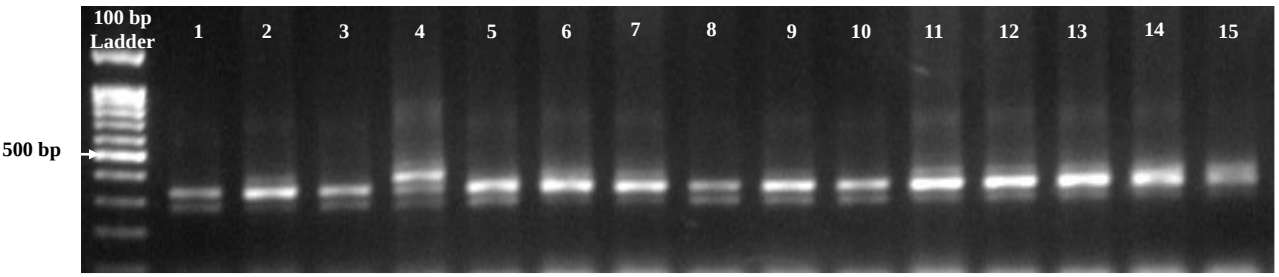
شکل ۳: الگوی نواری ایجاد شده برای نشانگرهای By8 و By9 در مکان ژنی *Glu-B1*. الف) نشانگر غالب By8، تنها نوار ۵۲۷ جفت بازی مربوط به آلل *By8* و عدم‌وجود نوار بیانگر نبود این آلل می‌باشد. ب) نشانگر همبارز By9، نوار ۷۰۷ جفت بازی مربوط به آلل *By9* و نوار ۶۶۲ جفت باز بیانگر عدم‌وجود این آلل می‌باشد. کد رقم از ۱ تا ۱۸ به‌ترتیب شامل ارقام الموت، الوند، آذر۲، بزوستایا، هیرمند، قدس، نیک‌نژاد، شعله، کرج۳، اکبری، داراب۲، کویر، هامون، روشن، رسول، شاهپسند، پیشتاز و استار می‌باشند

Fig. 3: The produced banding pattern of By8 and By9 markers at the *Glu*-B1 locus. a) Dominant By8 marker only showing 527 bp band for *By8* allele. b) By9 marker showing two bands of 707 bp and 662 bp which 707 bp band representing *By9* allele. The cultivar code from 1 to 18 are Alamot, Alvand, Azar2, Bezostaja, Hirmand, Qouds, Niknejad, Shole, Karaj3, Akbari, Darab2, Kavir, Hamon, Roshan, Rasol, Shahpasand, Pishtaz and Star, respectively

جدول ۲: مشخصات نشانگرهای آلل اختصاصی

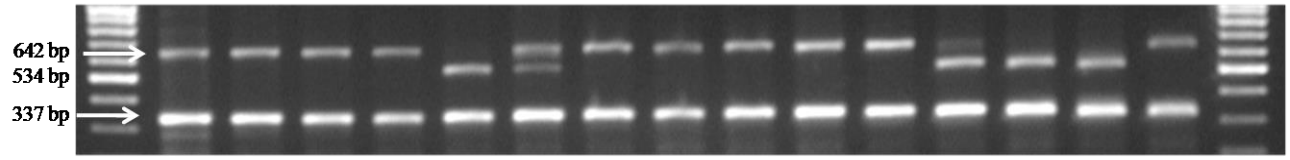
Table 2: Characteristics of allele specific markers

آغازگر Primers	توالی (´۵-´۳) Sequence (3'-5')	آلل Allele	دمای اتصال (°C) Annealing Tm (°C)	اندازه مورد انتظار نوار (bp) Expected band size (bp)	نوع نشانگر Type of marker	منبع Reference
UMN19	F: CGAGACAATATGAGCAGCAAG R: CTGCCATGGAGAAGTTGGA	Ax2*, Ax null/1	۶۰	۳۴۴ ،۳۶۲	Co-dominant	(Liu *et al.*, 2008)
UMN25	F: GGGACAATACGAGCAGCAAA R: CTTGTTCCGGTTGTTGCCA	Dx2, Dx5	۶۰	۲۹۹ ،۲۸۱	Co-dominant	(Liu *et al.*, 2008)
UMN26	F: CGCAAGACAATATGAGCAAACT R: TTGCCTTTGTCCTGTGTGC	Dy10, Dy12	۶۰	۳۹۷ ،۴۱۵	Co-dominant	(Liu *et al.*, 2008)
Bx67	F: CGCAACAGCCAGGACAATT R: AGAGTTCTATCACTGCCTGGT	Bx17, Bx7*, Bx7^{CD}	۵۸	۶۷۵ ،۷۷۰+۷۵۰ ،۶۷۰+۶۵۰	Co-dominant	(Butow *et al.*, 2003)
By8	F: TTAGCGCTAAGTGCCGTCT R: TTGTCCTCTTTGCTGCCCTT	By8	۶۴	۵۲۷	Dominant	(Lei *et al.*, 2006)
By9	F: TTCTCTGCATCAGTCAGGA R: AGAGAAGCTGTGTAATGCC	By9	۵۹	۷۰۷ ،۶۶۲	Co-dominant	(Lei *et al.*, 2006)
By16	F: GCAGTACCCAGCTTCTCAA R: CCTTGTCTTGTTTGTTGCC	By16	۶۲	۳۵۰+۳۱۰+۲۹۰ ،۳۱۰+۲۹۰	Co-dominant	(Lei *et al.*, 2006)
cauBx752	F: AGGGGCAGGGAAGAAACACT R: CCAGGCAACACAAATCCATG	B17+B18 (دوبلکس)	۵۸	۵۳۴+۳۳۷ ،۶۴۲+۷۵۲	Co-dominant	(Xu *et al.*, 2008)
cauBx642	F: GGGCAATCGGGGTACTTCC R: CCCTTGTCTTGGCTGTTGTC					



شکل ۴: الگوی نواری ایجاد شده برای نشانگر By16 در مکان ژنی *Glu-B1*. قطعه سه نواری مربوط به آلل *By16*، و قطعه دو نواری مربوط به آلل‌های دیگر از قبیل *By8*، *By9* و *By15* می‌باشد. کد رقم از ۱ تا ۱۵ به‌ترتیب شامل ارقام الموت، الوند، آذر۲، بزوستایا، هیرمند، قدس، نیک نژاد، شعله، کرج۳، اکبری، داراب۲، کویر، هامون، روشن و رسول می‌باشند

Fig. 4: The produced banding pattern of By16 marker at the *Glu*-B1 locus. By16 marker showing two banding patterns, a pattern of three bands for *By16* allele, and pattern of two bands for other alleles like *By8*, *By9* and *By15*. The cultivar code from 1 to 15 are Alamot, Alvand, Azar2, Bezostaja, Hirmand, Qouds, Niknejad, Shole, Karaj3, Akbari, Darab2, Kavir, Hamon, Roshan and Rasol, respectively



شکل ۵: الگوی نواری ناشی از PCR دوگانه (مخلوط دو نشانگر cauBx642 و cauBx752). چاهک‌ها به‌ترتیب از چپ به راست، نردبان مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، الموت، الوند، آذر۲، بزوستایا، هیرمند، قدس، نیک‌نژاد، شعله، اکبری، کرج۳، کوکری، داراب۲، کویر، اسکلبر، گلادیوس. ترکیب نوارهای ۶۴۲ و ۳۳۷ جفت بازی بیانگر وجود زیرواحدهای ۸+۷ یا ۹+۷ می باشند درحالی‌که ترکیب نوارهای ۵۳۴ و ۳۳۷ جفت بازی بیانگر وجود زیرواحد های ۱۸+۱۷ می‌باشند

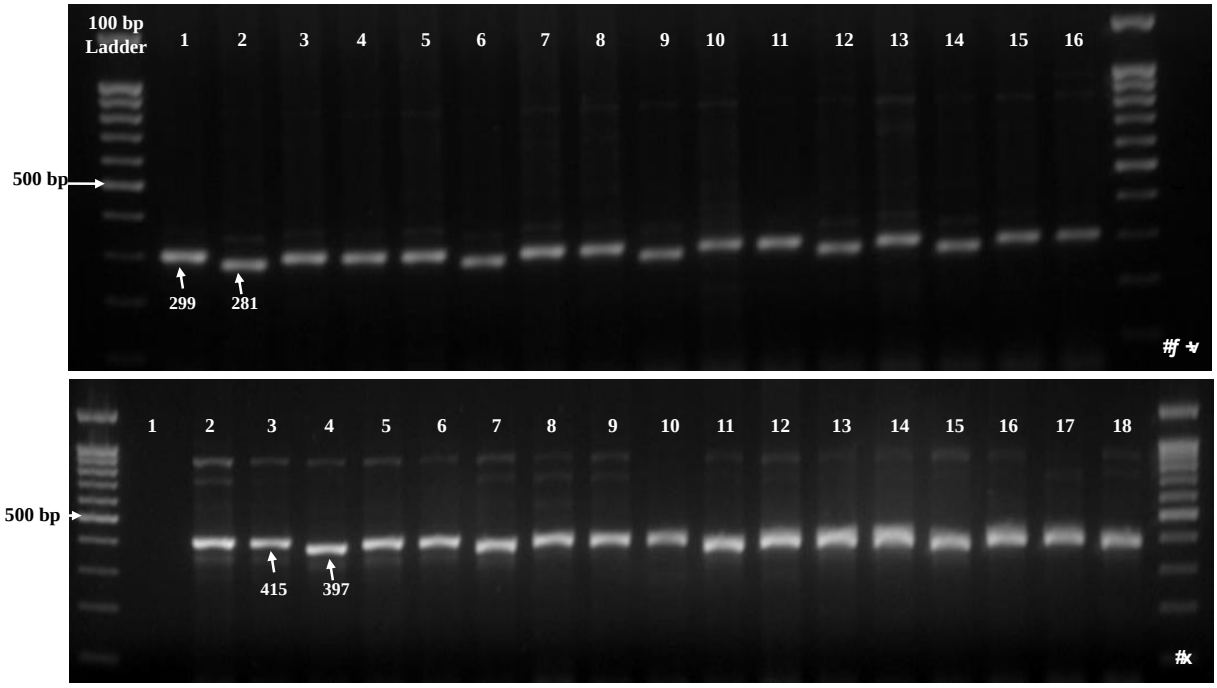
Fig. 5: The banding pattern that produced from duplex PCR (application of two cauBx642 and cauBx752 markers in same PCR reaction). Lanes from left to right are 100 bp DNA ladder, Alamoot, Alvand, Azar2, Bezostaja, Hirmand, Quds, Niknejad, Sholeh, Akbari, Karaj3, Kukri, Darab2, Kavir, Excalibur and Gladious. Banding combination of 642 bp and 337 bp representing subunits of 7+8 or 7+9, while 534 bp and 337 bp combination showing 17+18 subunits

ترکیب آللی در مکان ژنی *Glu*-B1

در این مکان ژنی برای تکثیر جایگاه‌های ژنی زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا از شش جفت نشانگر اختصاصی استفاده شد (شکل ۲ و ۳). نشانگر Bx67، سه الگوی نواری متفاوت را نشان داد، که بیانگر سه آلل *Bx* متفاوت بود. یک قطعه‌ی ۶۷۵ جفت بازی برای ژنوتیپ‌های حاوی آلل *Bx17*، دو قطعه ۶۵۰ و ۷۵۰ جفت بازی برای ژنوتیپ‌های حاوی $Bx7^{*}$ و دو نوار ۶۷۰ و ۷۷۰ جفت بازی را برای شناسایی ژنوتیپ‌های حاوی آلل $Bx7^{CD}$ تکثیر نمود (شکل ۲). این نتایج با یافته‌های *بیوتو* و همکاران (2003) مطابقت داشت. تنوع آللی بالایی در مکان Bx در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مشاهده شد. آلل‌های *Bx17*، $Bx7^{CD}$ و *Bx7** به‌ترتیب در ۲۸، ۴۰ و ۳۶ درصد از ژنوتیپ‌ها مشاهده گردید.

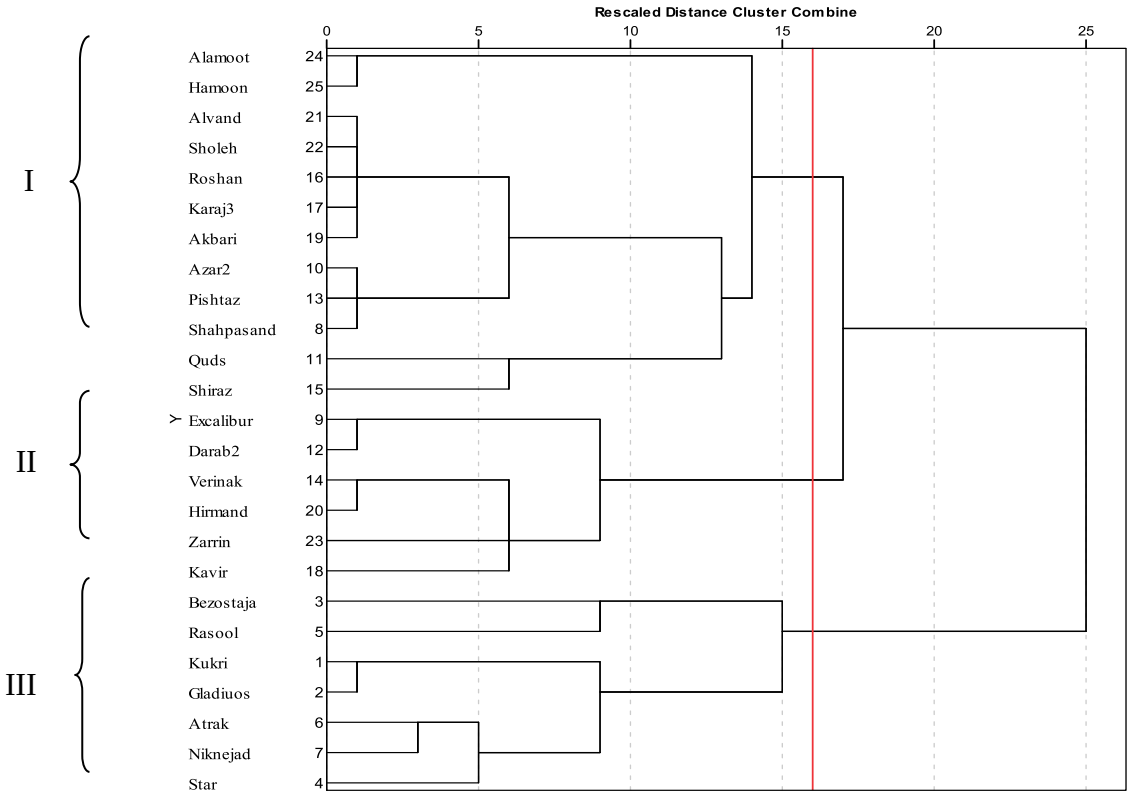
نشانگر غالب By8 یک قطعه‌ی ۵۲۷ جفت بازی را برای ژنوتیپ‌های دارای آلل *By8* تکثیر نمود و عدم حضور نوار در این نشانگر بیانگر آلل‌های دیگر این مکان ژنی از قبیل *By9*، *By15*، *By16* و *By18* بود (شکل ۳الف). ۱۳ ژنوتیپ (الوند، آذر۲، قدس، شعله، کرج۳، اکبری، کوکری، گلادیوس، روشن، شاهپسند، پیشتاز، استار و شیراز) آلل *By8* را داشتند که این مشاهدات اهمیت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد، زیرا اکثر آن‌ها دارای آلل *By8* بودند. نتایج به‌دست آمده در رابطه با اندازه قطعات تکثیری، مطابق با اندازه قطعات گزارش شده توسط *لی* و همکاران (2006) بود.

نشانگر By9 به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های حاوی آلل *By9* به کار گرفته شد. این نشانگر دو نوار متفاوت ۶۶۲ و ۷۰۷ جفت بازی را به‌ترتیب برای عدم وجود *By9* و حضور آلل *By9*، تکثیر نمود (شکل ۳ب) که هفت ژنوتیپ (الموت، بزوستایا، نیک نژاد، هامون، رسول، استار و اترک) آلل *By9* را داشتند.



شکل ۶: الگوی نواری ایجاد شده برای نشانگرها در مکان ژنی *Glu-D1*. الف) نشانگر UMN25، نوار ۲۸۱ جفت باز بیانگر آلل *Dx5* و نوار ۲۹۹ جفت باز بیانگر آلل *Dx2* می‌باشد، ب) نشانگر UMN26، نوار ۳۹۷ جفت باز بیانگر آلل *Dy10* و نوار ۴۱۵ جفت باز بیانگر آلل *Dy12* می‌باشد

Fig. 6: The produced banding pattern of markers at the Glu-D1 locus, a) UMN25 marker showing 281 bp and 299 bp bands for *Dx5* and *Dx2* alleles, respectively. b) UMN26 marker representing 397 bp and 415 bp bands for *Dy10* and *Dy12* alleles, respectively



شکل ۷: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای براساس ماتریس ضریب تطابق ساده و الگوریتم لینکاژ بین گروهی برای زیرواحدهای گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا در ارقام گندم مورد مطالعه

Fig. 7: The dendrogram resulted from cluster analysis based on simple matching coefficient matrix and between group linkage algoritme for high molecular weight glutenin subunits in the studied wheat cultivars

جدول ۳: ترکیبات آللی مختلف در مکان‌های ژنی *Glu-1* در ارقام گندم مورد مطالعه و امتیاز کیفی آن‌ها

Table 3: Different allelic combination at the *Glu-1* loci in the studied wheat cultivars and their quality scores

رقم Cultivar		مکان ژنی Locus			امتیاز کیفی
		Glu-A1	*Glu-B1*	*Glu-D1*	Quality scores
Kukri	کوکری	*Ax1*	*Bx7*+By8*	*Dx5+Dy10*	10
Gladiuos	گلادیوس	*Ax1*	*Bx7*+By8*	*Dx5+Dy10*	10
Bezostaja	بزوستایا	*Ax2**	*Bx7^{CD}+By9/Bx13+By16*	*Dx5+Dy10*	10
Star	استار	*Ax2**	*Bx7*+By8/By9*	*Dx5+Dy10*	10
Rasool	رسول	*Ax2**	*Bx7^{CD}+By9*	*Dx5+Dy10*	9
Atrak	اترک	*Ax2**	*Bx7*+By9*	*Dx5+Dy10*	9
Niknejad	نیک نژاد	*Ax2**	*Bx7*+By9*	*Dx5+Dy10*	9
Shahpasand	شاهپسند	*Ax2**	*Bx7^{CD}+By8*	*Dx2+Dy12*	8
Excalibur	اسکلیبر	*Ax2**	*Bx17+By18/Bx13+By16*	*Dx2+Dy12*	8
Azar2	آذر۲	*Ax2**	*Bx7^{CD}+By8*	*Dx2+Dy12*	8
Quds	قدس	*Ax2**	*Bx7*+By8/Bx17+By18*	*Dx2+Dy12*	8
Darab2	داراب۲	*Ax2**	*Bx17+By18/Bx13+By16*	*Dx2+Dy12*	8
Pishtaz	پیشتاز	*Ax2**	*Bx7^{CD}+By8*	*Dx2+Dy12*	8
Verinak	وری ناک	*Ax2**	*Bx17+By18*	*Dx2+Dy12*	8
Shiraz	شیراز	*Ax2**	*Bx7*+By8*	*Dx2+Dy12*	8
Roshan	روشن	*AxNull*	*Bx7^{CD}+By8*	*Dx2+Dy12*	6
Karaj3	کرج۳	*AxNull*	*Bx7^{CD}+By8*	*Dx2+Dy12*	6
Kavir	کویر	*Ax1*	*Bx17+By18*	*Dx2+Dy12*	6
Akbari	اکبری	*AxNull*	*Bx7^{CD}+By8*	*Dx2+Dy12*	6
Hirmand	هیرمند	*Ax2**	*Bx17+By18*	*Dx2+Dy12*	6
Alvand	الوند	*AxNull*	*Bx7^{CD}+By8*	*Dx2+Dy12*	6
Sholeh	شعله	*AxNull*	*Bx7^{CD}+By8*	*Dx2+Dy12*	6
Zarrin	زرین	*AxNull*	*Bx17+By18*	*Dx2+Dy12*	6
Alamoot	الموت	*AxNull*	*Bx7*+By9*	*Dx2+Dy12*	5
Hamoon	هامون	*AxNull*	*Bx7*+By9*	*Dx2+Dy12*	5

نشانگر By16 بین آلل‌های *By16* و *Bx20* تفاوت قائل شد. این نشانگر سه الگوی نواری متفاوت برای آلل‌های گلوتنین متفاوت تکثیر نمود. الگوی سه نواری را برای ژنوتیپ‌های دارای *By16*، عدم‌حضور نوار برای آلل *Bx20* و الگوی دو نواری را برای آلل‌های دیگر از قبیل *By8*، *By9* و *By15* طبق مشاهدات *لی* و همکاران (2006) تکثیر نمود (شکل ۴). نتایج این مطالعه الگوی نواری مونومرف را برای اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد و یک الگوی دو نواری برای آن‌ها تکثیر شد. از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه فقط سه ژنوتیپ (بزوستایا، داراب۲ و اسکلیبر) الگوی سه نواری را نشان دادند که بیانگر وجود آلل *By16* در این ژنوتیپ‌ها می‌باشد. هم‌چنین در بین ارقام مورد مطالعه زیرواحد *Bx20* مشاهده نشد.

با استفاده از تجزیه‌های آزمایشگاهی مشخص شد که نشانگرهایی که توسط *ژو* و همکاران (Xu *et al.*, 2008) به‌منظور شناسایی زیرواحدهای مکان ژنی *Glu-B1* طراحی شده بودند، می‌توانند به‌طور هم‌زمان به روش PCR دوگانه، در یک واکنش تکثیری به‌کار برده شوند. که در این مخلوط آغازگرها، حضور تک نوار ۳۳۷ جفت باز تکثیر شده توسط نشانگر cauBx752 به همراه نوار ۵۳۴ جفت باز تکثیر شده توسط نشانگر cauBx642، نشان‌دهنده‌ی وجود ترکیب آللی *Bx17+By18* می‌باشد (شکل ۵).

در مجموع، ترکیبات آللی *Bx7+By9*، *Bx7+By8*، *Bx17+By18* و *Bx13+By16* برای مکان ژنی *Glu*-B1 مشاهده شد. در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی دو ژنوتیپ (بزوستایا و

رسول) ترکیب آللی *Bx7^{CD}+By9* را داشتند و پنج ژنوتیپ (الموت، نیک‌نژاد، هامون، استار و اترک) دارای آلل‌های *Bx7*+By9* بودند. هفت ژنوتیپ (الوند، آذر۲، شعله، کرج ۳، اکبری، روشن، شاهپسند و پیشتاز) دارای آلل‌های *Bx7^{CD}+By8* بوده و پنج ژنوتیپ (قدس، کوکری، گلادیوس، استار و شیراز) آلل‌های *Bx7*+By8* را داشتند. در این مطالعه آلل *Bx17* تقریباً در ۲۴ درصد از ژنوتیپ‌ها یافت شد و سایر ارقام، حاوی دیگر ترکیبات آللی در مکان ژنی *Glu-B1* بودند (جدول ۳).

کیهانی و همکاران (2015) در مکان *Glu*-B1، شش ترکیب آللی *Bx7+By8*، *Bx7+By9*، *Bx13+By19*، *Bx13+By16*، *Bx6+By8* و *Bx14+By15* را در گندم‌های بومی ایران شناسایی و گزارش کردند که بیشتری فراوانی مربوط به ترکیب آللی *Bx7+By8* با ۸۵ درصد بود که مطابق با یافته‌های این تحقیق بود. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق برای ژنوتیپ‌های (بزوستایا، پیشتاز، اترک و روشن) مطابق با یافته‌های *نصیریان خیابانی* و همکاران (2009) بود، هم‌چنین نتایج به‌دست آمده برای ژنوتیپ‌های (کرج ۳، قدس، الموت، الوند، هیرمند، زرین، آذر۲، پیشتاز و شیراز) با نتایج *بحرایی* و همکاران (2004) و *نجفیان* و بقایی (2011) مطابقت داشت.

ترکیب آللی در مکان ژنی *Glu-D1*

به‌منظور تفکیک زیرواحدهای مکان ژنی *Glu-D1* از دو نشانگر اختصاصی UMN25 و UMN26 استفاده شد. نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات PCR اختصاصی نشان داد که نشانگر UMN25 دو نوار با اندازه‌های ۲۸۱ و ۲۹۹ جفت باز به‌ترتیب برای زیرواحدهای *Dx5* و *Dx2* تکثیر نمود (شکل ۶الف). نشانگر UMN26 بین دو زیر واحد *Dy10* و *Dy12* تمایز قائل شد، به‌طوری‌که نواری با اندازه ۳۹۷ جفت باز برای زیرواحد *Dy10* و ۴۱۵ جفت باز را نیز برای زیرواحد *Dy12* تکثیر کرد (شکل ۶ب). ژنوتیپ‌هایی که توسط دو نشانگر UMN25 و UMN26 شناسایی شدند، زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالای آن‌ها برای مکان ژنی *Glu-D1* در تمام ۲۵ رقم مورد مطالعه کاملاً مطابقت داشتند.

در این مکان ژنی، دو ترکیب آللی *Dx2+Dy12* و *Dx5+Dy10* به‌ترتیب در ۷۲ و ۲۸ درصد از ارقام مشاهده شد. به‌طوری‌که، ژنوتیپ‌های الموت، الوند، آذر۲، هیرمند، قدس، شعله، کرج۳، اکبری، داراب۲، اسکلیبر، هامون، روشن، شاهپسند، پیشتاز، استار، وری‌ناک، شیراز و زرین ترکیب آللی *Dx2+Dy12* را داشتند. درحالی‌که هفت ژنوتیپ بزوستایا، نیک‌نژاد، کوکری، گلادیوس، رسول، استار و اترک ترکیب آللی *Dx5+Dy10* را نشان دادند. به‌طورکلی، تنوع آللی پایینی برای این مکان ژنی مشاهده شد. *کیهانی* و همکاران (2015) ترکیب آللی *Dx2+Dy12* را در ۹۳/۵ درصد از گندم‌های بومی ایران گزارش کردند، که نشان‌دهنده تنوع آلی پایین در این مکان ژنی است.

در خصوص نقش مکان ژنی *Glu-D1* به‌خصوص برتری ترکیب آللی *Dx5+Dy10* نسبت به *Dx2+Dy12* گزارش‌های زیادی وجود دارد (*شوری* و همکاران، 2003). در سیستم امتیازدهی، امتیاز کیفیت ترکیبات آللی *Dx2+Dy12* و *Dx5+Dy10* به‌ترتیب ۴ و ۲ است. به اعتقاد بسیاری از دانشمندان، پخت خوب نان به میزان زیادی به حضور جفت زیرواحد *Dx5+Dy10* در مکان ژنی *Glu-D1* بستگی دارد (*رابینویچ*؛ *بوشاک* Rabinovich, 1998; Bushuk, 1998). در کانادا کلیه لاین‌های به‌نژادی براساس حضور جفت زیرواحد *Dx5+Dy10* انتخاب شده و فراوانی برابر ۹۵ درصد در مقابل ۵ درصد زیرواحد *Dx2+Dy12* در آن‌ها گزارش شده است (*بوشاک*، 1998). همچنین ۸۵ درصد گندم‌های آمریکا شامل زیرواحدهای *Dx5+Dy10* هستند. در اوکراین، روسیه و قزاستان وضعیت متفاوت بوده و فراوانی زیرواحدهای *Dx5+Dy10* بین ۴۶ تا ۵۵ درصد و *Dx2+Dy12* بین ۴۱ تا ۵۴ درصد گزارش شده است. در کشورهای اخیر حدود ۵۳-۵۰ درصد ارقامی که به‌عنوان کیفیت خوب شناخته شده‌اند، جفت زیرواحد *Dx2+Dy12* نشان داده‌اند (*رابینویچ*، 1998). یکی از دلایل مهم فراوانی بالاتر زیرواحدهای *AxNull* و *Dx2+Dy12* در ارقام ایرانی در مقایسه با سایر کشورها، عدم کاربرد این پروتئین‌ها به‌عنوان معیار انتخاب در برنامه‌های به‌نژادی کیفیت گندم می‌باشد.

درجه‌بندی کیفی ارقام

در نهایت ترکیبات گلوتنین مشخص شده براساس سیستم امتیازدهی *پی‌فلاگر* (1995) به‌منظور پیش‌بینی کیفیت پخت نان آن‌ها امتیازدهی شدند. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ترکیبات آللی متفاوتی را با رتبه کیفی متفاوت نشان دادند. بیشتر ژنوتیپ‌های مورد بررسی رتبه ۸، ۹ و ۱۰ را داشتند که نشان‌دهنده‌ی کیفیت پخت نان خوب تا عالی است (جدول ۲).

ژنوتیپ‌های الموت، الوند، شعله، کرج۳، اکبری، هامون، روشن و زرین رتبه ۵ و ۶ را داشتند که نشان‌دهنده‌ی کیفیت پخت نان پایین است. ژنوتیپ‌های بزوستایا، کوکری، گلادیوس و استار دارای بالاترین رتبه کیفی براساس آلل‌های گلوتنین موجود در ژرم‌پلاسم خود بودند که رتبه کیفی این ژنوتیپ‌ها ۱۰ بود. کیفیت بالای این ژنوتیپ‌ها به حضور زیرواحدهای *Ax1*

یا *Ax2** در مکان ژنی *Glu-A1* و *Dx5+Dy10* در مکان ژنی *Glu-D1* نسبت داده شده‌است. ژنوتیپ‌های آذر۲، هیرمند، قدس، داراب۲، اسکلیبر، کویر، پیشتاز، وری‌ناک و شیراز امتیاز ۸ را گرفتند و ژنوتیپ‌های نیک‌نژاد، رسول و اترک دارای امتیاز کیفی ۹ بودند، زیرا بسیاری از این ژنوتیپ‌ها فاقد آلل *Dx5+Dy10* بودند (جدول ۳). *کیهانی* و همکاران (2015) نیز دلیل اصلی پایین بودن ارزش کیفی در نمونه‌های گندم مورد بررسی را بالا بودن فراوانی ترکیب آللی *Dx2+Dy12* در مکان ژنی *Glu-D1* و آلل *AxNull* در مکان ژنی *Glu*-A1 پیشنهاد کردند.

نتایج تجزیه خوشه‌ای ارقام گندم را به سه گروه عمده تفکیک نمود (شکل ۷). در گروه اول (I) ۱۲ رقم شامل؛ الموت، هامون (با امتیاز کیفی پنج)، الوند، شعله، روشن، کرج۳، اکبری (با امتیاز کیفی شش)، آذر۲، پیشتاز، شاهپسند، قدس و شیراز (با امتیاز کیفیت هشت از ۱۰) قرار گرفتند. امتیاز کیفی ارقام این گروه ضعیف تا متوسط بود. در گروه دوم شش رقم واقع شدند که شامل ارقام اسکلیبر، داراب۲ و ورِیناک (با امتیاز کیفی هشت)، هیرمند، زرین و کویر (با امتیاز کیفیت شش از ۱۰) بودند. ارقام این گروه در مکان ژنی *Glu-D1* دارای زیرواحد *Dx2+Dy12 بودند* و در مجموع امتیاز ژنوتیپی همه این ارقام متوسط بود، لذا ارقام متوسط از لحاظ کیفیت نانوایی در این گروه قرار گرفتند. در گروه سوم، هفت رقم بزوستایا، رسول، کوکری، گلادیوس، اترک، نیک‌نژاد و استار دارای امتیاز کیفی ۹ و ۱۰ بودند. ارقام این گروه از لحاظ کیفیت نانوایی نسبت به دیگر ارقام برتری داشتند و دارای آلل‌های مطوب *Dx5+Dy10* و *Ax1* یا *Ax2** بودند. با توجه به نتایج این تحقیق، استفاده از ارقام گروه سوم در برنامه‌های اصلاحی به‌دلیل داشتن زیرواحدهای مناسب (*Ax1*، *Ax2**، *Bx7+By8*، *Bx17+By18* و *Dx5+Dy10*) در مکان ژنی *Glu-1* و تأثیر مثبت این زیرواحدها بر کیفیت آرد و نان، پتانسیل خوبی را برای افزایش کیفیت نانوایی در تلفیق با دیگر ویژگی‌های مطلوب ارقام رایج مورد کشت در ایران فراهم خواهد آورد.

نتایج حاصل از این تحقیق، در مجموع ۱۰ نوع آلل و ۱۴ نوع زیرواحد با وزن مولکولی بالا در مکان‌های ژنی *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* توسط نه نشانگر مبتنی بر PCR آلل اختصاصی، در ۲۵ رقم گندم نان مورد بررسی نشان داد که سه آلل در مکان ژنی *Glu-A1* (*Ax1*، *Ax2** و *AxNull*)، شش ترکیب آللی در مکان ژنی *Glu-B1* (*Bx7^{CD}+By8*، *Bx7*+By8*، *Bx7^{CD}+By9*، *Bx7*+By9*، *Bx17+By18*، *Bx13+By16*) و دو ترکیب آللی در مکان ژنی *Glu-D1* (*Dx2+Dy12* و *Dx5+Dy10*) شناسایی شدند. این نتایج تنوع فوق‌العاده بالایی را بین ارقام مورد مطالعه نشان می‌دهد، که این تنوع آللی گسترده در مکان *Glu-1*، یافته با ارزشی در تحقیقات مربوط به پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گندم می‌باشد.

براساس یافته‌های این تحقیق، معلوم گردید که ارقام گلادیوس، کوکری، بزوستایا و استار نسبت به ارقام دیگر از نظر خصوصیات کیفیت پروتئین برتر بوده و می‌توانند به‌عنوان والدین بالقوه دارای آلل‌های مفید مرتبط با کیفیت در برنامه‌های به‌نژادی گزینش به کمک نشانگر مورد استفاده قرار گیرند. البته، مشخص شده است که محیط به‌طور معنی‌داری درصد کل و حتی انفرادی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و در نتیجه توزیع اندازه پلی‌مرهای گلوتنین را تحت تأثیر قرار می‌دهد *ژو* و *خان*؛ *دای* و همکاران (Dai *et al.*, 2013; Zhu and Khan, 2002). لذا با توجه به نتایج حاصله پیشنهاد می‌گردد که ارقام گلادیوس، کوکری، بزوستایا و استار در سطح وسیع‌تر (به‌صورت مزارع آزمایشی بزرگ مقیاس) کشت و به‌طور دقیق مورد بررسی قرار گیرند و در صورت تأیید نتایج حاصل از این آزمایش و مطالعه سازگاری با منطقه، جایگزین ارقام با کیفیت پایین گردند.

سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از آقای مهندس شوروزدی، کارشناس بخش زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی بیرجند، به خاطر کمک‌های بی‌دریغشان تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۲۶-۲۸ متن انگلیسی مراجعه شود.