بررسی خصوصیات کیفی و بیان ژن‌های دخیل در کیفیت نانوایی برخی از لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم نان

محدثه غلامی فرح‌آبادی[۱]، غلامعلی رنجبر[۲،*]، دهستانی کلاگر[۳] و نادعلی باقری[۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح‌نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
۲- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح‌نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
۳-استادیار، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۴ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۰)

چکیده

کیفیت نان به کمیت و کیفیت پروتئین آرد گندم بستگی دارد و این مستلزم استفاده از ارقام مناسب گندم می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی کیفیت نانوایی لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم و ارتباط بین خصوصیات کیفی با پروتئین‌های ذخیره‌ای گلوتنین بوده است. صفات مرتبط با کیفیت نانوایی ۳۰ لاین دابلدهاپلوئید گندم به‌همراه والدین و همچنین دو رقم Ehsan و Morvarid به‌عنوان شاهد مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمون SDS-PAGE جهت مشخص نمودن میزان پروتئین کل و ارتباط بین پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر با خصوصیات کیفی انجام شد و سپس آزمون بیان ژن‌های دخیل در کیفیت نانوایی صورت گرفت. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌های گندم اختلاف معنی‌داری در تمامی صفات مورد ارزیابی وجود دارد. بیشترین میزان حجم رسوب زلنی مربوط به لاین‌های DH-143 و DH-159 (به‌ترتیب با ۳٤ و ۳۱ میلی‌لیتر)، بیشترین گلوتن مرطوب مربوط به DH-159 (۷۷/۸۰ گرم) و DH-143 (۷٤/۸۵ گرم)، بیشترین گلوتن خشک مربوط به DH-159 (۲٦/۲۱ گرم) و DH-143 (۲۵/۱۱ گرم) و بیشترین میزان جذب آب مربوط به DH-159 (۵۱/۵۹ درصد) و DH-143 (٤۹/۷٤ درصد) بود. همچنین بیشترین محتوای پروتئین مربوط به DH-143 (۱۸/۰۳ درصد) و DH-159 (۱۷/۷۲ درصد) بود. بررسی خصوصیات کیفی نانوایی نشان داد که لاین‌های DH-143 و DH-159 مطلوب‌تر می‌باشند. نتایج آزمون SDS-PAGE مشخص نمود که بالاترین میزان پروتئین دانه مربوط به لاین‌های DH-143 و DH-159 (به‌ترتیب ۲۸/۲۳ و ۲٦/٦۳ میکروگرم در میلی‌لیتر) می‌باشد. بر اساس نتایج حاصل از آزمون بیان ژن (Real-Time PCR) مشخص شد که لاین‌های DH-159 و DH-143 میزان بیان بالاتری را برای ژن‌های HMW-X، HMW-Y و PDIL در مقایسه با رقم شاهد از خود نشان دادند. با توجه به نتایج حاصله از این مطالعه، لاین‌های DH-143 و DH-159 را می‌توان در برنامه اصلاحی برای بهبود کیفیت نانوایی گندم مورد استفاده قرار داد.

واژگان کلیدی: بیان ژن، پروتئین، دابلدهاپلوئید، رسوب زلنی، SDS-PAGE

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: **ali.ranjbar@sanru.ac.ir**

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از غلات و مهم‌ترین منبع غذایی در سراسر جهان می‌باشد. بر اساس گزارش سازمان خواروبار و کشاورزی جهان (فائو)، میزان تولید جهانی گندم در سال‌های ۲۰۱۹-۲۰۱۸ برابر با ۷٦٦/٤ میلیون تن بوده است که ٤/۸ درصد و معادل ۳٤/۸ میلیون تن نسبت به سال گذشته افزایش داشته است. گندم ازلحاظ میزان تولید بعد از ذرت و برنج در رده سوم اهمیت قرار دارد و به‌طور متوسط ٤٥-٤۰ درصد از کل کالری و ۵۰ درصد از کل پروتئین در رژیم غذایی انسان را فراهم می‌کند (FAO, 2019). گندم در بین غلات بیشترین سازگاری را با شرایط اقلیمی متفاوت دارا می‌باشد، به‌طوری که این گیاه در سراسر دنیا از کرانه‌های قطبی تا حوالی استوا کشت می‌شود (Joudi *et al*., 2014). عمده‌ترین مصرف گندم در سراسر جهان به‌صورت نان می‌باشد که کیفیت مطلوب آن از نظر طعم، مزه، کاهش مقدار ضایعات و طول مدت نگه‌داری اهمیت بسزایی دارد (Bushuk, 1998). افزایش کیفیت نانوایی گندم به‌عنوان یکی از اهداف اصلاحی همواره مورد توجه بسیاری از محققان بوده است. کیفیت نانوایی علاوه‌بر ساختار ژنتیکی دانه گندم، تحت تأثیر مجموعه‌ای از اثرات محیطی شامل خاک و آب‌وهوا می‌باشد (Finney *et al*., 1987). عوامل متعددی در تعیین کیفیت آردهای گندم دخیل هستند که از آن جمله می‌توان به میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم دانه اشاره داشت که عمده‌ترین عامل‌های مؤثر بر کیفیت محصول این گیاه استراتژیک محسوب می‌شوند. پروتئین‌های گلوتن شامل گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها است و نزدیک به هشتاد درصد پروتئین دانه گندم را این دو جزء تشکیل می‌دهند. گلوتنین به‌صورت چندزنجیره‌ای و گلیادین به‌صورت تک‌زنجیره‌ای هستند (D'ovidio *et al*., 1997). این پروتئین‌ها تعیین‌کننده قدرت کشش (الاستیسیته) و خصوصیات منحصر به فرد ویسکوزیته خمیر می‌باشند که این ویژگی‌ها با تغییر میزان و کیفیت گلوتن که نقش مهمی در کیفیت نانوایی دارد تغییر پیدا می‌کند (Tanaka *et al*., 2005). گلوتنین‌ها به لحاظ مولکولی به دو گروه گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) و گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) تقسیم‌بندی می‌شوند. این پروتئین‌ها نقش مهم و اساسی را در کیفیت آرد و همچنین پخت نان دارند (Barnard *et al*., 2002). امروزه بعد از تحقیقات گسترده در این زمینه مشخص شده است که مسئول تفاوت‌های موجود در ارقام مختلف گندم از نظر کیفیت و خواص غذایی آرد، تنوع در نوع و مقدار پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر می‌باشد؛ به این دلیل در برنامه‌های به‌نژادی کیفیت گندم، از این پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به‌عنوان شاخص ارزشمند و مهم استفاده می‌شود (Nakamura, 2000). تکنیک SDS-PAGE یک روش کم‌هزینه، سریع و تکرارپذیر جهت مطالعه پروتئین‌های ذخیره‌ای موجود در بذر می‌باشد (Liu *et al*., 2016). همچنین به‌منظور ارزیابی کیفیت نانوایی گندم در نسل‌های اولیه در یک برنامه اصلاحی، معمولاً مقدار کافی بذر در دسترس نمی‌باشد؛ بنابراین استفاده از روش‌های آزمایشگاهی مانند اندازه‌گیری حجم رسوب زلنی، محتوای پروتئین دانه، گلوتن خشک و گلوتن مرطوب برای انتخاب لاین‌های برتر و امیدوارکننده از نظر کیفیت نانوایی پیشنهاد شده است (Sanchez-Garcia *et al*., 2015). طی پژوهشی اکبری و همکاران (Akbari *et al*., 2017) تنوع ژنتیکی ۲۸ لاین اینبرد نوترکیب گندم را در سه مکان ژنی به روش SDS-PAGE مورد بررسی قرار دادند و سپس ارتباط بین نوارها و برخی خصوصیات مرتبط با کیفیت نانوایی ازجمله حجم رسوب زلنی، درصد جذب آب، درصد پروتئین و غیره را مورد سنجش قرار دادند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که مهم‌ترین آلل‌های مؤثر بر کیفیت نانوایی با گلوتن مرطوب، درصد پروتئین و حجم رسوب زلنی رابطه مثبت و معنی‌داری داشته است. همچنین نجفیان و همکاران (Najafian *et al*., 2008) از طریق انجام آزمایشی ٦۷ رقم گندم نان را با استفاده از صفت حجم رسوب زلنی مورد ارزیابی قرار دادند و به این نتیجه

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

رسیدند که از طریق میزان گلوتنین موجود در این ارقام می‌توانند آن‌ها را به دو گروه با کیفیت خوب (جهت تهیه‌ی نان‌های حجمی) و متوسط (جهت تهیه‌ی نان‌های پهن) گروه‌بندی کنند. طی بررسی‌های انجام شده در خصوص ارتباط زیر واحدهای گلوتنین سنگین و صفات مرتبط با کیفیت دانه مهرآذر و همکاران (Mehr Azar *et al.*, 2014)، ۳۲ رقم تجاری گندم را به‌همراه زیر واحدهای HMW به روش SDS-PAGE مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که چهار مؤلفه اصلی درصد پروتئین، میزان جذب آب، سختی دانه و حجم رسوب زلنی می‌توانند تغییرات ارزش کیفی نانوایی را توجیه کنند. در پژوهشی دیگر محققین با بررسی صفات کیفی و پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، ۱۱ ژنوتیپ گندم دوروم و سه رقم گندم نان دریافتند که میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای با صفات کیفی همبستگی مثبت داشته است (Rajabi Hashjin *et al.*, 2014). بررسی‌های زیادی در رابطه با ویژگی‌های مرتبط با کیفیت نانوایی و اثر میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای بر کیفیت نان ارقام گندم نان انجام شده است (Khoshroo *et al.*, 2011; Ghoreishi *et al.*, 2014; Derakhshan *et al.*, 2017).

در این مطالعه، بررسی خصوصیات مرتبط با صفات کیفی و خصوصیات نانوایی و ارتباط آن‌ها با میزان گلوتنین موجود در ارقام و لاین‌های مختلف گندم و همچنین بیان ژن‌های دخیل در کیفیت نانوایی هدف‌گذاری شد تا بتوان از طریق مطالعات آزمایشگاهی-مولکولی، ارقام یا ژنوتیپ‌های مناسب را از نظر افزایش عملکرد و تولید بیشتر و به‌خصوص بهبود کیفیت نانوایی گندم‌های تولید شده دسته‌بندی کرد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی خصوصیات مربوط به کیفیت نانوایی لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم نان به‌همراه والدینشان و نیز مقایسه آن‌ها با ارقام مورد کشت در منطقه (به‌عنوان شاهد)، ابتدا بذرهای مربوط به این لاین‌ها و ارقام از آزمایشگاه سیتوژنتیک و بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه شد. رقم‌های والد مورد استفاده در این پژوهش Trident و Molineux و رقم‌های شاهد Ehsan و Morvarid بودند. با مطالعه نتایج پژوهش‌های مسچی‌باهوش و همکاران و زرگانی و همکاران (Zargani *et al.*, 2015; Meschibahoush *et al.*, 2018) از بین لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم نان ۳۰ لاین برتر انتخاب شد که فهرست این لاین‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. در اولین مرحله غربالگری لاین‌ها و ارقام با چهار آزمون کیفی ازجمله اندازه‌گیری حجم رسوب زلنی، اندازه‌گیری گلوتن مرطوب و خشک، درصد جذب آب و همچنین بررسی محتوای پروتئین در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱- ارقام و لاین‌های مورد استفاده در این پژوهش

Table 1. Varieties and Lines used in this research

ردیف Row	لاین/رقم Variety/Line	ردیف Row	لاین/رقم Variety/Line	ردیف Row	لاین/رقم Variety/Line	ردیف Row	لاین/رقم Variety/Line
1	Trident	10	DH-11	20	DH-82	29	DH-143
2	Molineux	11	DH-27	21	DH-86	30	DH-155
3	Ehsan	12	DH-30	22	DH-102	31	DH-156
4	Morvarid	14	DH-50	23	DH-106	32	DH-157
5	DH-4	15	DH-54	24	DH-108	33	DH-159
6	DH-7	16	DH-56	25	DH-109	34	DH-166
7	DH-8	17	DH-61	26	DH-115		
8	DH-9	18	DH-62	27	DH-130		
9	DH-10	19	DH-70	28	DH-141		

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

حجم رسوب زلنی: به‌منظور انجام این آزمون در ابتدا میزان ۳۰۰ گرم نمونه بذری خالص، توسط دستگاه BLENDER 8011ES آسیاب شد و اندازه‌گیری‌ها بر اساس استانداردهای انجمن بین‌المللی علوم و تکنولوژی غلات (ICC) صورت گرفت. اندازه‌گیری حجم رسوب زلنی با روش ارائه شده توسط (ICC) به شماره ۱۱۶/۱ انجام شد. برای انجام این آزمون ابتدا استوک محلول اسید لاکتیک (زلنی) و محلول برموفنل‌بلو طبق دستورالعمل تهیه گردید، سپس ۳/۲ گرم آرد را که توسط الک ۱۰۰ غربال شده بود به درون استوانه مدرج ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال و ۵۰ میلی‌لیتر محلول بروموفنل‌بلو به آن اضافه شد، سپس درب آن را بسته و با هم زدن به‌صورت سوسپانسیون تبدیل شد. بعد از ۲-۱ دقیقه سکون مجدداً عمل هم زدن را با شیکر انجام داده و ۲۵ میلی‌لیتر محلول زلنی به آن افزوده شد و به‌مدت ۵ دقیقه با شیکر یا دست به‌خوبی هم زده شد. پس از ۵ دقیقه سکون مقدار رسوب باقی‌مانده برحسب میلی‌لیتر به‌عنوان عدد زلنی یادداشت شد. بالا بودن میزان گلوتن در نمونه‌ها سبب ته‌نشینی آرام‌تر و درنتیجه افزایش حجم ته‌نشینی می‌شود، لذا هر چه مقدار رسوب بیشتر باشد نشان‌دهنده کیفیت بهتر نان می‌باشد. مطابق استاندارد ICC حجم رسوب زیر ۲۰ میلی‌لیتر مربوط به گروه گندم‌های ضعیف، ۲۵-۲۰ میلی‌لیتر گروه متوسط و بالاتر از ۲۵ میلی‌لیتر در گروه گندم‌های قوی با گلوتن بالا گروه‌بندی شدند (ICC Standard Methods, 2008).

گلوتن مرطوب، خشک و درصد جذب آب: اندازه‌گیری درصد گلوتن مرطوب و خشک بر اساس روش انجمن شیمی غلات آمریکا (AACC, 10-38) به روش دستی به‌دلیل سهولت و هزینه کم مورد استفاده قرار گرفت. به این منظور مقدار ۸/۳ گرم آرد آسیاب شده را توزین کرده و سپس مقدار ٤ میلی‌لیتر از محلول NaCl 2% درون بشر افزوده و به‌خوبی مخلوط شد و به‌مدت ۱۵-۱۰ دقیقه بعد، عمل شستشوی خمیر در جریان بسیار ملایم آب جهت خروج ترکیبات محلول در آن انجام داده شد و عمل توزین جهت به‌دست آوردن مقدار گلوتن مرطوب انجام گرفت. همچنین به‌منظور به‌دست آوردن گلوتن خشک گلوله‌های خمیر را به‌مدت ٢٤ ساعت در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس عمل توزین صورت گرفت. برای محاسبه میزان جذب آب از فرمول زیر استفاده شد. گلوتن به‌دلیل بافت متخلخل بین ۲ تا ۳ برابر وزن خود آب جذب می‌کند.

(گلوتن خشک - گلوتن مرطوب) = درصد جذب آب

محتوای پروتئین دانه: برای اندازه‌گیری نیتروژن کل و میزان پروتئین از دستگاه NDA (Nitrogen Dumas Analyzer) 702 استفاده شده است. به این صورت که درواقع میزان پروتئین از درصد نیتروژن اندازه‌گیری شده در نمونه محاسبه می‌شود (Gozubenli, 2010). این دستگاه بر اساس احتراق نمونه در حضور اکسیژن و در محفظه‌ای با دمای بالا عمل می‌کند که منجر به آزادسازی دی‌اکسید کربن (CO_2)، آب (H_2O) و نیتروژن (N) می‌شود. سپس دی‌اکسید کربن و آب با عبور از ستون‌های ویژه‌ای که آن‌ها را جذب می‌کنند حذف شده و در انتها میزان نیتروژن از طریق عبور گاز باقیمانده از ستونی که دارای یک آشکارساز حرارتی است اندازه‌گیری می‌شود.

الکتروفورز الگوی باندی پروتئین‌های دانه (SDS-PAGE): پس از انجام مرحله اول غربالگری از بین لاین‌های دابلدهاپلوئید دو لاین به‌عنوان لاین مطلوب و دو لاین نامطلوب انتخاب شد و به‌همراه والدین و ارقام شاهد در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شدند. پس از رسیدن کامل، برداشت بذر ارقام انجام شد و به جهت انجام آزمون SDS-PAGE مورد استفاده قرار گرفت. الگوی باندی پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه توسط تکنیک SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) مورد مطالعه قرار گرفت (Laemmli, 1970). در این روش غلظت ژل جدا کننده ١٤ درصد و غلظت ژل متراکم کننده ٦ درصد در نظر گرفته شد. محتوی پروتئین کل به دو صورت، میزان پروتئین خام (Crude protein) و میزان پروتئین محلول (قابل‌حل) مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور استخراج پروتئین‌های ذخیره‌ای ابتدا نمونه‌های بذر تمامی لاین‌ها و ارقام در هاون چینی پودر و

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

به میزان ۰/۱ گرم از نمونه پودر شده در ویال اتوکلاو شده ریخته شدند، سپس به میزان ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج فسفات به هر نمونه اضافه و به جهت حل شدن پروتئین‌ها در بافر، نمونه به‌مدت ٤٥ دقیقه در دمای محیط قرار داده شدند. پس از آن به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱٤۰۰۰ دور (17968 g)، قرار داده شدند. سپس برای سنجش کمیت پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر از روش برادفورد و از BSA (Bovine serum albumin) به‌عنوان استاندارد استفاده شد (Bradford, 1976). در این روش برای تعیین کمیت مقدار پروتئین، ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه به ویال حاوی ۹٦۰ میکرولیتر محلول همگن صاف شده برادفورد و ۳۰ میکرولیتر آب مقطر انتقال یافت، سپس میزان جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول‌موج ۵۹۵ نانومتر قرائت و بر اساس میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بذر یادداشت شد. در تکنیک SDS-PAGE ژل پلی‌اکریل‌آمید از دو قسمت بالایی و پایینی تشکیل شده است. با ورود نمونه‌های پروتئین به ژل بالا که ژل متراکم کننده هم نامیده می‌شود همه‌ی نمونه‌های پروتئین آماده می‌شوند تا به‌صورت هم‌زمان به لایه حل‌کننده وارد شوند. زمانی که نمونه وارد این لایه حل‌کننده می‌شود در طول کل چاهک‌ها پخش شده و یک اسمیر پیوسته قابل رؤیت خواهد بود. لایه حل‌کننده سپس بر اساس وزن مولکولی پروتئین‌ها را تفکیک می‌کند (Wang.*et al.*, 2014). پس از تهیه ژل بالا و پائین طبق استاندارد به‌منظور بارگذاری نمونه‌ها در SDS-PAGE جهت الکتروفورز پروتئین‌ها بر اساس زیر واحدهای پروتئینی، ۲۰ میکرولیتر از پروتئین با ۲۰ میکرولیتر از بافر نمونه به‌خوبی مخلوط گردید. در نهایت از محلول حاصل به میزان ۲۰ میکرولیتر برای هر ژنوتیپ در چاهک‌های ژل بارگذاری شد (Motamedzadegan and Hadidi, 2012). سپس عملیات رنگ‌آمیزی و رنگ‌بری ژل انجام و باندهای پروتئینی قابل روئیت شدند.

بررسی بیان ژن با تکنیک Real-time PCR: به‌منظور بررسی بیان ژن، RNA کل از بذور ارقام و لاین‌ها استخراج گردید. استخراج RNA با استفاده از بافر ترایزول و بر اساس دستورالعمل شرکت (Thermo Fisher Scientific) انجام شد. جهت استخراج RNA تعداد ۲۰ عدد بذر گندم از هر تکرار درون هاون چینی خرد و با استفاده از ازت مایع نمونه‌ها کاملاً پودر شدند. سپس نمونه‌های پودر شده در ویال ریخته شدند. در مرحله بعد به تمام نمونه‌ها به ازای ۰/۱ گرم نمونه ۱۰۰۰ میکرولیتر ترایزول اضافه شد. سپس به‌مدت ۳۰ تا ٤۰ ثانیه ورتکس انجام شد. در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به نمونه‌ها اضافه و به‌مدت ۱۵ ثانیه تکان داده و ۵ دقیقه روی یخ قرار داده شدند و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه با ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ فاز رویی را جدا کرده و به میزان حجم نمونه برداشت شده ایزوپروپانول سرد به نمونه‌ها اضافه شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه در فریزر ۲۰- نگهداری شدند. نمونه‌ها از فریزر خارج شده و مجدد سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد و پس از مشاهده RNA به‌صورت یک رسوب سفید رنگ در انتهای ویال‌ها، مایع رویی دور ریخته شد و اتانول ۷۵ درصد به رسوب (پلیت) اضافه و به‌مدت ۸ دقیقه در دمای ٤ درجه و با دور ۷۵۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ مواد موجود در ویال‌ها را خالی کرده تا رسوب کاملاً خشک شود. سپس مقدار ۵۰ میکرولیتر آب تزریقی به ویال‌ها اضافه شد و در نهایت به‌منظور حل شدن رسوب، نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۷ درجه ترمومیکسر قرار داده شدند تا RNA به‌خوبی حل شود. همچنین جهت ارزیابی کیفیت و کمیت RNA استخراج شده از دو روش اسپکتروفتومتری با طول‌موج ۲٦۰ نانومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد. در مرحله بعد با تیمار دئوکسی ریبونوکلئازی توسط آنزیم DNaseI، DNA ژنومی از RNA استخراج شده حذف گردید. بدین منظور ٦ میکرولیتر از نمونه RNA استخراج شده و یک میکرولیتر MgCl2، یک میکرولیتر DNaseI اضافه شد و به‌وسیله آب تزریقی درون ویال ۰/۲ میلی‌لیتری به حجم ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس ویال حاوی نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از حذف DNA مقدار یک میکرولیتر EDTA به نمونه‌ها اضافه و مجدداً به‌مدت ۱۰

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

دقیقه در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. ساخت cDNA طبق پروتکل شرکت Thermo Fisher Scientific انجام گرفت. بدین منظور ٥ میکرولیتر از RNA تیمار شده با DNase ساخته شده در فرآیند قبل را برداشته و یک میکرولیتر oligo dt به آن اضافه شد و با آب تزریقی به حجم ١٢ میکرولیتر رسانده شد. سپس نمونه‌ها اسپین شده و به‌مدت ٥ دقیقه در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. مخلوط واکنش برای مرحله رونویسی معکوس به‌صورت ترکیب (٤ میکرولیتر بافر 5x، ٢ میکرولیتر dNTPS، ١ میکرولیتر Ribolock RNase Inhibitor ((RT و ١ میکرولیتر Reverse Transcriptase (RI)) به ویال ١٢ میکرولیتری حاوی مواد اضافه شد و حجم آن به ٢٠ میکرولیتر رسانده شد. ویال حاوی نمونه‌ها اسپین شده و به‌مدت ٦٠ دقیقه در دمای ٤٢ درجه سانتی‌گراد و در آخر نیز به‌منظور توقف واکنش به‌مدت ٥ دقیقه در دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. آغازگرهای ژن‌های HMW-X، HMW-Y، LMW-B، LMW-D و PDIL2 به‌همراه ژن ADP به‌عنوان ژن خانه‌دار (کنترل داخلی) از مقالات استخراج (جدول ٢) و به‌منظور اعتبارسنجی با استفاده از Primer Blast سایت NCBI تائید شدند (Zhong *et al.*, 2018; Katagiri *et al.*, 2011).

تجزیه و تحلیل بیان ژن‌های مورد بررسی بر مبنای روش آنالیز نسبی (روش ΔC_T) با استفاده از ژن رفرنس و با استفاده از تکنیک Real-Time PCR و دستگاه CFX96TM Real-Time System شرکت BIO-RAD انجام شد. برای انجام واکنش Real-Time PCR در شرایط مطلوب حجم ١٠ میکرولیتر از هر نمونه با سه تکرار بیولوژیکال تهیه شد. به‌منظور جلوگیری از خطاهای احتمالی و ایجاد آلودگی در هنگام برداشت از مقادیر کم مواد مورد نیاز و به جهت راحتی و سرعت عمل بالاتر، از محلول پایه، استوک تهیه گردید. تمامی مواد مورد نیاز به‌همراه cDNA تا زمان استفاده روی یخ نگهداری شدند و همچنین تمامی مراحل تهیه‌ی محلول‌های Real-Time PCR در زیر هود و محیط استریل و در پلیت‌های ٩٦تایی مخصوص Real-Time PCR ریخته شدند. به‌منظور تشخیص آلودگی در طی واکنش Real-Time PCR از کنترل منفی (NTC) استفاده شد. به همین جهت برای هر ژن مورد بررسی ٣ چاهک در پلیت مربوط به NTC قرار داده شد. به این صورت که در این چاهک‌ها تمامی مواد لازم برای انجام واکنش Real-Time PCR به‌غیر از cDNA ریخته شده بود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ٩.٤ و SPSS نسخه ٢٦ انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید. آزمایش بررسی بیان ژن‌ها در قلب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز از طریق آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ١ درصد انجام شد.

جدول ٢- توالی آغازگرهای مورد استفاده در Real-Time PCR

Table 2. Primer sequences used for Real-time PCR

نام ژن Gene name	توالی (٥'-٣') Sequence (5'-3')	دمای ذوب TM (°C)	طول قطعه تکثیری (جفت‌باز) Product Size (bp)
HMW-X	Fwd:5'- ATGTTAGCGCGGAGCACCAG-3'	61.40	122
	Rev:5'- TATCACTGGCTGGCCGACA-3'	61.40	
HMW-Y	Fwd:5'- CAAGGCTACGACAGCCCATAC-3'	61.78	115
	Rev:5'- CACCCTCCATCCGACACACT-3'	61.40	
LMW-B	Fwd:5'- GGTACCTTDTTGCAGCCACA-3'	58.40	128
	Rev:5'- CCGAATGGCACAMTAGTGGT-3'	58.40	
LMW-D	Fwd:5'- TTGCAGCCACACCARATAGC-3'	58.40	151
	Rev:5'- CTTATCAGTAGGCACCAACT-3'	55.25	
PDIL2	Fwd:5'- TCCCCACGATACTCTTCTATCCA-3'	60.65	67
	Rev:5'- CGGTCCCCCTCGAAAGTTAT-3'	59.35	
ADP	Fwd:5'- GCTCTCCAACAACATTGCCAAC-3'	60.25	165
	Rev:5'- GCTTCTGCCTGTCACATACGC-3'	61.78	

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

نتایج و بحث

آزمون حجم رسوب زلنی: نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمون حجم رسوب زلنی نشان داد که ارقام مورد ارزیابی از نظر این صفت کیفی در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری داشتند که این اختلاف نشان‌دهنده وجود تنوع بین ارقام می‌باشد و انتخاب از بین ارقام بر اساس این صفت را فراهم می‌سازد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که از نظر میزان حجم رسوب زلنی، تمامی ارقام و لاین‌ها تفاوت زیادی با یکدیگر داشتند، به این صورت که لاین‌های DH-143 با مقدار (۳٤ میلی‌لیتر) و DH-159 با مقدار حجم رسوب (۳۱ میلی‌لیتر) بیشترین میزان رسوب زلنی را داشتند که نشان‌دهنده‌ی کیفیت مطلوب این لاین‌ها در صفت حجم رسوب زلنی می‌باشد و همچنین لاین‌های DH-7 و DH-106 به‌ترتیب با مقادیر (۱۱ و ۱۱/۳۳ میلی‌لیتر) کمترین حجم رسوب را دارا بودند (جدول ٤).

گروه‌بندی بین ۳۰ لاین مورد بررسی در این پژوهش و ارقام والد و شاهد به این صورت بود که پس از تعیین مقدار ته‌نشین شده برحسب میلی‌لیتر در استوانه مدرج، حجم رسوب زلنی باقی‌مانده یادداشت شد و طبق استانداردهای ICC بر اساس میزان حجم رسوب در سه گروه طبق جدول ۵ تقسیم‌بندی شدند.

گلوتن مرطوب، خشک و درصد جذب آب

نتایج تجزیه واریانس جدول ۳ معنی‌دار شدن اثر ارقام و لاین‌های گندم مورد استفاده در این پژوهش بر صفت میزان گلوتن مرطوب، گلوتن خشک و درصد جذب آب را نشان داد. به‌طوری که در صفت گلوتن مرطوب بیشترین مقدار مربوط به لاین‌های DH-159 (با میانگین ۷۷/۸۰ گرم) و لاین DH-143 (با میانگین ۷٤/۸۵ گرم) و نیز کمترین مقدار (۲۲/۷٤ گرم) به لاین DH-106 اختصاص داشت که با لاینDH-7 با مقدار (۳٤/۳۷ گرم) اختلاف معنی‌داری نداشت و در یک گروه قرار گرفتند. طبق نتایج ارقام والد Trident و Molineux و ارقام شاهد Ehsan و Morvarid نیز دارای مقدار متوسطی بودند. همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که مطلوب‌ترین لاین‌ها از نظر صفت کیفی گلوتن خشک مربوط به لاین‌های DH-159 با مقدار ۲٦/۲۱ گرم و لاین DH-143 با مقدار ۲۵/۱۱ گرم اختصاص داشت و کمترین مقدار گلوتن خشک مربوط به لاین DH-106 با مقدار ۸/۷۵ گرم و لاین DH-7 با مقدار ۱۱/۸۰ گرم می‌باشد (جدول ٤).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مربوط به درصد جذب آب مشخص شد که بین لاین‌ها و ارقام اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همچنین طبق داده‌های نتایج مقایسه میانگین (جدول ٤) بیشترین میزان درصد جذب آب با مقادیر ۵۱/۵۹ و ٤۹/۷٤ درصد به‌ترتیب مربوط به لاین‌های DH-159 و DH-143 می‌باشد و کمترین میزان به‌ترتیب با مقادیر ۱۳/۹۹ و ۲۲/۵٦ درصد مربوط به لاین‌های DH-106 و DH-7 گزارش شد (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات کیفی هر یک از ارقام و لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم

Table 3. Analysis of variance for the qualitative traits of each of wheat's doubled haploids varieties

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات (Mean square)				
		زلنی Zeleny	گلوتن مرطوب Wet Gluten	گلوتن خشک Dry Gluten	محتوای نیتروژن Nitrogen content	درصد جذب آب Water absorption
تیمار Treatment	33	16.123**	445.02**	47.83**	6.36**	202.22**
خطا Error	68	7.09	1.51	1.10	1.48	0.91
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)		14.09	2.15	5.67	8.39	2.51

**: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

**: Significance at 1% probability level

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

جدول ٤- نتایج مقایسه میانگین صفات کیفی هر یک از ارقام و لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم

Table 4. Mean comparison results for the qualitative traits of each of wheat's doubled haploids varieties

تیمار Treatment	زلنی (میلی‌لیتر) Zeleny (ml)	گلوتن مرطوب (گرم) Wet Gluten (g)	گلوتن خشک (گرم) Dry Gluten (g)	محتوای پروتئین (درصد) Protein content (%)	درصد جذب آب (درصد) Water absorption (%)
4 DH	15.00^{K-P}	37.69^{u}	13.20^{qr}	12.62^{ij}	24.49^{p}
7 DH	11.00^{P}	34.37^{v}	11.80^{r}	12.33^{j}	22.56^{q}
8 DH	20.67^{e-h}	50.58^{pq}	17.00^{m-o}	12.37^{j}	33.85^{m}
9 DH	13.67^{m-p}	55.19^{mn}	18.95^{i-l}	14.01^{d-j}	36.24^{kl}
10 DH	12.00^{n-p}	45.02^{st}	14.71^{pq}	14.93^{b-g}	30.31^{no}
11 DH	17.33^{h-m}	59.55^{ij}	20.14^{g-k}	16.42^{a-c}	39.41^{g-i}
27 DH	19.00^{f-k}	56.55^{lm}	19.18^{i-l}	12.71^{ij}	37.37^{jk}
30 DH	22.00^{e-g}	52.79^{op}	17.91^{l-n}	13.34^{f-j}	34.88^{lm}
49 DH	29.00^{bc}	70.50^{c-e}	23.52^{b-e}	14.99^{b-g}	46.98^{c}
50 DH	13.33^{m-p}	62.80^{g}	21.09^{f-h}	14.48^{c-i}	41.71^{de}
54 DH	21.67^{e-g}	51.49^{pq}	17.65^{l-n}	14.02^{d-j}	33.83^{m}
56 DH	19.67^{e-i}	69.25^{de}	23.28^{c-e}	16.53^{a-c}	45.98^{c}
61 DH	12.33^{n-p}	51.90^{pq}	17.61^{l-n}	13.98^{d-j}	34.29^{m}
62 DH	18.00^{g-l}	60.37^{h-j}	20.39^{g-j}	15.04^{b-f}	39.98^{f-i}
70 DH	21.33^{e-h}	37.69^{u}	13.20^{qr}	15.45^{b-e}	24.48^{p}
82 DH	23.00^{d-f}	59.58^{ij}	19.84^{h-k}	15.01^{b-g}	39.75^{g-i}
86 DH	20.33^{e-h}	70.10^{c-e}	23.85^{b-d}	15.58^{b-d}	46.25^{c}
102 DH	12.00^{n-p}	43.83^{t}	14.76^{pq}	14.52^{c-i}	29.07^{o}
106 DH	11.33^{op}	22.74^{w}	8.75^{s}	12.09^{j}	13.99^{r}
108 DH	12.00^{n-p}	61.71^{gh}	20.93^{f-i}	12.81^{h-j}	40.78^{e-g}
109 DH	26.33^{cd}	58.77^{jk}	19.75^{h-k}	15.29^{b-f}	39.02^{hi}
115 DH	18.33^{g-k}	64.98^{f}	21.75^{e-g}	16.41^{a-c}	43.22^{d}
130 DH	27.00^{b-d}	71.01^{cd}	23.77^{b-d}	16.93^{ab}	47.24^{c}
141 DH	19.33^{f-j}	69.74^{c-e}	23.86^{b-d}	14.97^{b-g}	45.88^{c}
143 DH	34.00^{a}	74.85^{b}	25.11^{ab}	18.03^{a}	49.74^{b}
155 DH	20.33^{e-h}	68.72^{e}	22.44^{d-f}	14.63^{c-i}	46.28^{c}
156 DH	14.00^{l-p}	71.56^{c}	25.07^{a-c}	13.75^{d-g}	46.48^{c}
157 DH	13.33^{m-p}	57.27^{kl}	18.46^{k-m}	14.99^{b-g}	38.81^{ij}
159 DH	31.00^{ab}	77.80^{a}	26.21^{a}	17.72^{a}	51.59^{a}
166 DH	22.00^{e-g}	54.54^{no}	18.62^{j-m}	13.40^{e-j}	35.92^{kl}
Trident	23.67^{de}	61.49^{g-i}	21.01^{f-h}	14.83^{b-h}	40.48^{e-h}
Molineux	23.00^{d-f}	62.56^{g}	21.05^{f-h}	14.90^{b-h}	41.50^{ef}
Ehsan	15.67^{i-n}	50.52^{q}	16.85^{m-o}	13.31^{f-j}	33.68^{m}
Morvarid	15.33^{j-o}	47.45^{r}	16.48^{n-p}	13.21^{f-j}	30.97^{n}

جدول ٥- گروه‌بندی ارقام و لاین‌ها بر اساس حجم رسوب زلنی و کیفیت نانوایی

Table 5. Grouping varieties and lines based on volume of Zeleny sediment and bread bakery quality

کیفیت ضعیف (۲۰-۱) Low quality (1-20)	کیفیت متوسط (۲٤-۲۰) Medium quality (20-24)	کیفیت عالی (۳۵-۲۵) Best quality (25-35)
4–7–9–10–11–27–50–56–61–62–102–106–108–115–141–156–157 – Ehsan–Morvarid	8–30–54–70–82–86–155–166– Trident –Molineux	49–130–143–159 –109

محتوای پروتئین دانه: نتایج حاصل شده مشخص شد که تیمارها دارای مقادیر پروتئین متفاوتی بوده و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین لاین‌ها و ارقام وجود دارد. همچنین مطابق با جدول ٤ مشخص شد که بیشترین میزان پروتئین مربوط به لاین‌های DH-143 و DH-159 (به‌ترتیب با مقادیر ۱۸/۰۳ و ۱۷/۷۲ درصد) و کمترین میزان پروتئین مربوط به لاین‌های DH-106 و DH-7 (به‌ترتیب با مقادیر ۱۲/۰۹ و ۱۲/۳۳ درصد) می‌باشد. بین ارقام والد Trident و Molineux و همچنین ارقام شاهد Ehsan و Morvarid نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و این ارقام در یک گروه از لحاظ میزان پروتئین قرار گرفتند (جدول ۵).

امروزه توجه محققین درباره وضعیت کیفی و نانوایی ارقام تولید شده امری مهم و ضروری به‌شمار می‌رود. بدین منظور برای هر یک از محصولات صنایع غذایی، نیاز به کیفیت مشخصی از ارقام می‌باشد که در بین آن‌ها خصوصیات کیفی ازجمله میزان رسوب زلنی، گلوتن مرطوب، گلوتن خشک، محتوای پروتئین و درصد جذب آب از اهمیت بالایی برخوردار هستند (Cubadda *et al.*, 2007). دنسیس و همکاران (Dencic *et al.*,

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

2012) نیز اثر ژنوتیپ و محیط بر خصوصیات نانوایی گندم را مورد بررسی قرار دادند. بدین منظور ۱۴۰ ژنوتیپ گندم را در طی سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۳ از ۲۸ کشور انتخاب نمودند. نتایج نشان داد که بین گندم و شرایط آب و هوایی و خصوصیات کمی و کیفی نان‌های تولید شده همبستگی بالایی وجود دارد. ارزانی (Arzani, 2002) در مطالعه کیفیت دانه ۳۰۰ ژنوتیپ گندم دوروم و اندازه‌گیری صفات سختی دانه، محتوای پروتئین، ارتفاع رسوب زلنی و محتوای گلوتن مرطوب و خشک، تنوع ژنتیکی قابل‌ملاحظه‌ای را گزارش نمود که نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعه ارزانی (Arzani, 2002) مطابقت دارد. طی پژوهشی که خدادادی و همکاران (Khodadadi *et al.*, 2013) بر روی توارث برخی صفات مرتبط با کیفیت نانوایی گندم صورت گرفت، مشخص شد که صفات حجم رسوب زلنی و درصد جذب آب وراثت‌پذیری خصوصی بالاتری داشته و در پروژه‌های اصلاحی قابل استفاده می‌باشند. فولر و همکاران (Fowler *et al.*, 1990) گزارش کردند که میزان پروتئین به‌عنوان متغیر اصلی در پیش‌بینی کیفیت نانوایی مطرح می‌باشد. حجم رسوب زلنی نیز که از صفات مهم در ارزیابی‌های کیفی می‌باشد، نقش بسیار مهمی در قدرت گلوتن داشته و با کیفیت پروتئین مرتبط است؛ به این صورت که ارقام و لاین‌هایی که دارای حجم رسوب بیشتری می‌باشند از نظر کیفیت نانوایی مطلوب بوده و همچنین دارای استحکام گلوتن بیشتری هستند و می‌توان از این صفت در پیش‌بینی‌های کیفیت نانوایی استفاده کرد (Najafian and Baghaei, 2011).

الگوی باندی پروتئین‌های دانه SDS-PAGE: طبق نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس (جدول ٦)، مشخص شد که تیمارها از لحاظ غلظت پروتئین با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند.

همچنین مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که بیشترین غلظت پروتئین دانه با مقدار ۲۸/۲۳ میکروگرم در میکرولیتر مربوط به لاین DH-143 می‌باشد که با لاین DH-159 و رقم Trident در یک گروه قرار گرفته است و کمترین غلظت پروتئین مربوط به رقم Ehsan با مقدار (۲۰/۹٦ میکروگرم در میلی‌لیتر) می‌باشد که ازلحاظ آماری با رقم Morvarid، DH-7 و Molineux اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۷).

جدول ٦- تجزیه واریانس میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر هر یک از ارقام و لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم

Table 6. Analysis of variance of seed storage proteins of wheat's doubled haploids varieties and lines

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات (Mean squares) غلظت پروتئین Protein concentration
تیمار Treatment	7	7.98**
خطا Error	16	0.09
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)		2.90

**: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

**: Significance at 1% probability level

جدول ۷- مقایسه میانگین میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر هر یک از ارقام و لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم

Table 7. Mean comparisons of the seed storage proteins of each wheat's doubled haploids varieties and lines

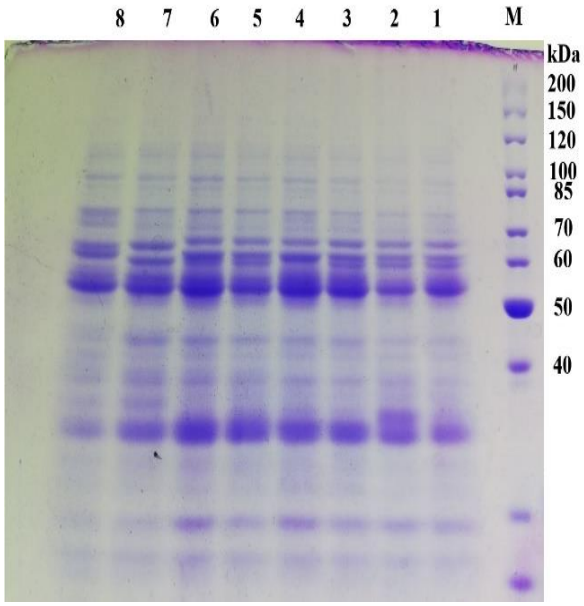
تیمار Treatment	غلظت پروتئین (میکروگرم/میلی‌لیتر) Protein concentration (µg/ml)
143 DH	28.23[a]
159 DH	26.63[ab]
106 DH	24.80[bc]
7 DH	21.80[d]
Trident	26.20[ab]
Molineux	22.53[cd]
Ehsan	20.96[d]
Morvarid	21.63[d]

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

الگوی باندی پروتئین‌های دانه در ارقام مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در این شکل ملاحظه می‌شود بر اساس باندهای نمایان شده در ژل اکریل‌آمید رقم والد Trident و لاین‌های DH-143 و DH-159 دارای میزان پروتئین با زیر واحدهای HMA بیشتری نسبت به لاین‌های DH-7 و DH-106 می‌باشند. بر اساس نتایج میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، به روش SDS-PAGE، مشخص شد که لاین‌های DH-143 و DH-159 به‌همراه والدین‌شان ازلحاظ میزان پروتئین و نیز کیفیت نانوایی به‌دلیل داشتن میزان بیشتری از زیر واحدهای HMW، بسیار مطلوب بودند (شکل ۱).

بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم و ارقام Ehsan، Morvarid، Trident و Molineux بر اساس پروتئین ذخیره‌ای بذر با استفاده از تکنیک SDS-PAGE و تجزیه خوشه‌ای بر مبنای ضریب تشابه جاکارد مطابق با شکل ۲ و الگوریتم خوشه‌بندی UPGMA طبق شکل ۳ نشان داد که بیشترین فاصله‌ی ژنتیکی بین لاین DH-7 و رقم Morvarid می‌باشد. همچنین بیشترین تشابه ژنتیکی بین ارقام Trident و Ehsan مشاهده شد. همان‌طور که در شکل ۲ قابل‌ملاحظه است کلاستر به‌دست آمده دارای یک گروه اصلی که شامل DH-159، Molineux، DH-143، Trident، Ehsan و Morvarid می‌باشد. دو لاینی که خارج از این گروه قرار گرفته و هیچ گروهی تشکیل ندادند (DH-7 و DH-106)، اگرچه فاصله‌ی ژنتیکی قابل‌ملاحظه با گروه اصلی دارند ولی مقدار تشابه لازم برای تشکیل یک گروه مجزا را ندارند.

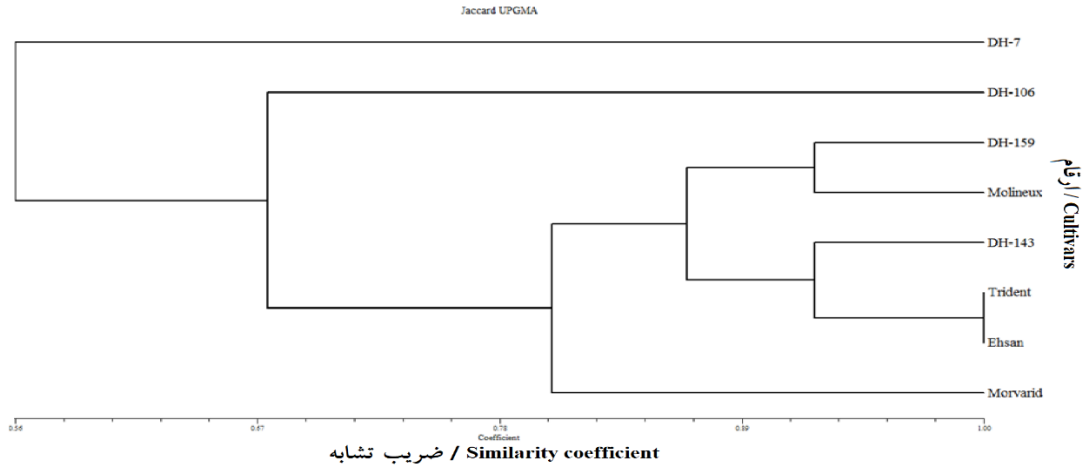
تجزیه‌ی تنوع ژنتیکی بر اساس الگوریتم میانگین میزان تشابه نشان داد که رقم Trident و DH-143 در یک گروه و ارقام Morvarid و Molineux به‌همراه DH-159، DH-106 و DH-7 در دیگر گروه قرار گرفتند. همچنین کمترین تشابه بین Ehsan و Trident و بیشترین تشابه بین Molineux و DH-159 دیده شد. نتایج این خوشه‌بندی حاکی از آن است که این روش تجزیه خوشه‌ای قادر به تفکیک تمامی لاین‌های دابلدهاپلوئید و والدینشان از دو رقم شاهد ایرانی می‌باشد. دندروگرام حاصل به‌همراه پروفایل پروتئین ذخیره‌ی بذری در شکل ۳ قابل مشاهده می‌باشد.



شکل ۱- پروفایل زیر واحدهای پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه. M، نشانگر پروتئینی؛۱، Ehsan. ۲، Morvarid. ۳، Trident. ٤، Molineux. ٥، DH-143. ٦، DH-159

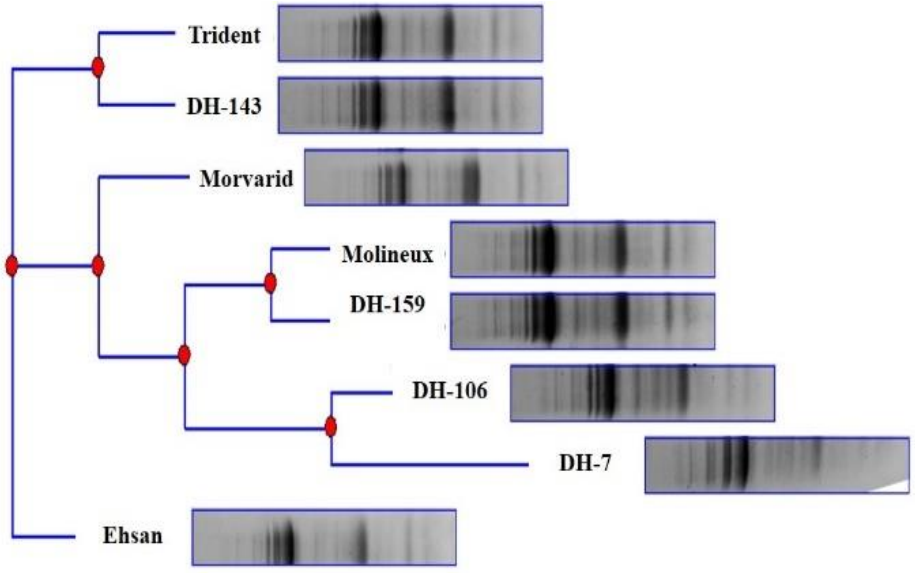
Figure 1. Seed storage proteins subunits profiles. M: protein marker, 1: Ehsan, 2: Morvarid, 3: Trident, 4: Molinex, 5: DH-143 and 6: DH-159 lines marker.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]



شکل ۲- خوشه‌بندی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در ارقام و لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم

Figure 2. Clustering for seed storage proteins in wheat's doubled haploids varieties and lines



شکل ۳- خوشه‌بندی UPGMA پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در ارقام و لاین‌های دابلدهاپلوئید گندم

Figure 3. UPGMA clustering for seed storage proteins in wheat's doubled haploids varieties and lines

طبق مطالعات، روزبیسکی و همکاران (Rozbicki *et al.*, 2015) به این نتیجه رسیدند که اگرچه تنها ۱۰ درصد از پروتئین‌های ذخیره‌ای را گلوتنین‌های با وزن بالا تشکیل می‌دهند و میزان آن از گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین کمتر است، اما تأثیر بیشتری بر خاصیت نانوایی گندم دارند. ارتباط بین زیر واحدهای HMW به خواص تکنولوژیک آرد و پخت نان در گندم‌های هگزاپلوئید (*Triticum aestivum* L.) گزارش شده است (Allahverdiyev *et al.*, 2015; Jockovic *et al.*, 2014). بررسی‌های بیوشیمیایی انجام شده در این پژوهش نیز بیان داشت که لاین DH-143 و والد Trident و لاین DH-159 دارای مقدار پروتئین ذخیره‌ای بذری فراوان‌تر و در نتیجه کیفیت نانوایی بالاتری نسبت به سایر ارقام و لاین‌ها هستند. استفاده از آنالیز SDS-PAGE که ابزار مفیدی برای تمایز و شناسایی پروتئین‌ها می‌باشد نیز به‌وضوح نتایج آزمون برادفورد را تأیید نمود. در بررسی که توسط نجفیان و همکاران (Najafian *et al.*, 2008) با مطالعه تعداد ۳۰۱ لاین مربوط به اقلیم‌های معتدل، سرد، گرم شمال و گرم جنوب کشور و نیز برنامه تولید لاین‌های دابلدهاپلوئید، ژنوتیپ زیر واحدهای HMW مشخص شد

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

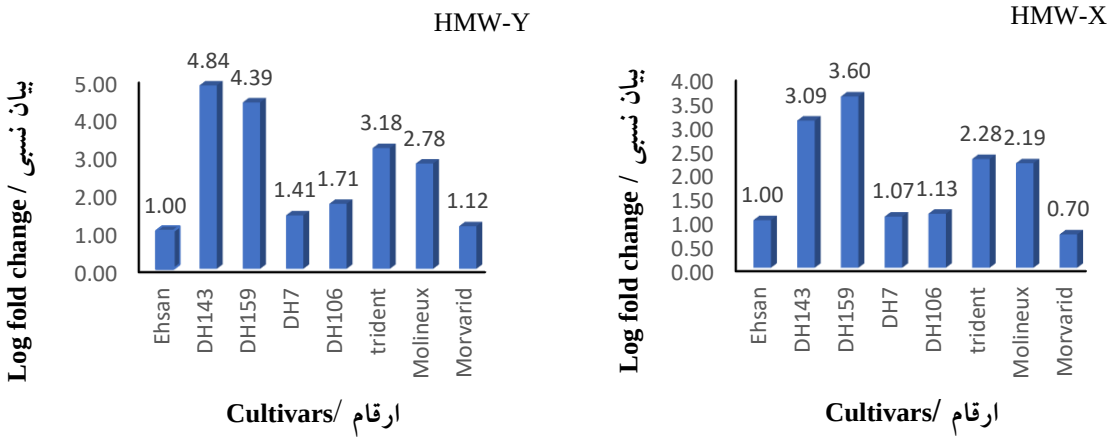
و فراوانی آلل‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بررسی مکان‌های ژنی Glu-1 توسط امیدوار و همکاران (Omidvar *et al*., 2018) بیانگر اثر این پارامتر بر کیفیت نان بود و با توجه به قابلیت جداسازی توسط SDS-PAGE و نشانگرهای مولکولی به‌عنوان یکی از پارامترها جهت آزمون و ارزیابی کیفیت نان معرفی شد. پرند و همکاران (Parand *et al*., 2019) در پژوهشی شامل ۱۵ رقم گندم نان از جمله رقم Morvarid (که در این پژوهش نیز مورد بررسی قرار گرفته است) با استفاده از آنالیز نتایج ژل‌های پلی‌اکریل‌آمید و گروه‌بندی با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب جاکارد و روش UPGMA ارقام را در ۵ گروه دسته‌بندی نمودند.

بررسی بیان ژن: در این تحقیق، نتایج حاصل از واکنش Real-Time PCR تأیید نمود که بیان ژن‌های مورد بررسی در لاین‌های دابلدهاپلوئید DH-143 و DH-159 مطابق با نتایج حاصل شده از آزمون‌های مرتبط با خصوصیات کیفی و همچنین نتایج آزمون SDS-PAGE، به‌طور معنی‌داری افزایش داشته است و لذا نسبت به سایر لاین‌ها و ارقام برتری قابل‌ملاحظه‌ای در اکثریت ژن‌ها از خود نشان داد. HMW به‌عنوان مجموعه مهم پروتئین‌های ذخیره بذری هستند (Yan *et al*., 2003) که در کیفیت آرد نانوایی نیز نقش دارند و بیان این ژن‌ها جهت تولید پروتئین‌ها بسیار مهم است. در مطالعه حاضر در بررسی ژن‌های HMW-X و HMW-Y، لاین‌های دابلدهاپلوئید DH-143 و DH-159 به‌ترتیب، افزایش بیان بیش از ۳ و ٤ برابری نسبت به شاهد داشتند (شکل ٤). ژانگ و همکاران (Zhang *et al*. 2008) گزارش نمودند که دلیل کاهش بیان ژن در لاین ترانسژنیک LH-11 خاموش‌سازی ژن‌های رونویسی شده توسط تغییرات اپی‌ژنتیک و بازداری RNA می‌باشد. خاموش‌سازی HMW-GS در LH-11 به شکل چشمگیری ویژگی‌های خمیر، محتوای GMP، محتوای گلوتن تر، مقدار رسوب‌گذاری SDS، زمان توسعه و زمان پایداری آرد تولید شده با این رقم گندم را تضعیف کرده است.

LMW (گلوتنین با وزن مولکولی پائین) شامل تعداد زیادی از پلی‌پپتیدها با ساختار پیچیده هستند که برای اولین بار با روش فیلتراسیون ژن شناسایی شده و تحت عنوان گروه‌های B، C و D معرفی شدند. رشید و همکاران و ما و همکاران (Ma *et al*., 2005; Rasheed *et al*., 2014) گزارش کردند که زیرواحدهای گلوتنین HMW-GS و LMW-GS به‌ترتیب ۱۲ و ۳۳ درصد از آندوسپرم را در برداشته و به‌ترتیب بیشترین اثر را روی الاستیسیته و قدرت خمیر در نانوایی دارند. اگرچه مقدار پروتئین HMW کم‌تر است، اما دوسوم کیفیت نانوایی نان وابسته به این پروتئین می‌باشد. در بیان ژن‌های LMW-B و LMW-D والدین لاین‌های هاپلوئید مضاعف (DH-143 و DH-159) به‌ترتیب، افزایش بیان بیش از ٤ و ۵ برابری نسبت به شاهد از خود نشان داده‌اند (شکل ۵) که این مطلب بیان‌کننده این موضوع می‌باشد که ارقام والد نیز دارای کیفیت مطلوبی ازلحاظ میزان ژن‌های دخیل در کیفیت نانوایی می‌باشند.

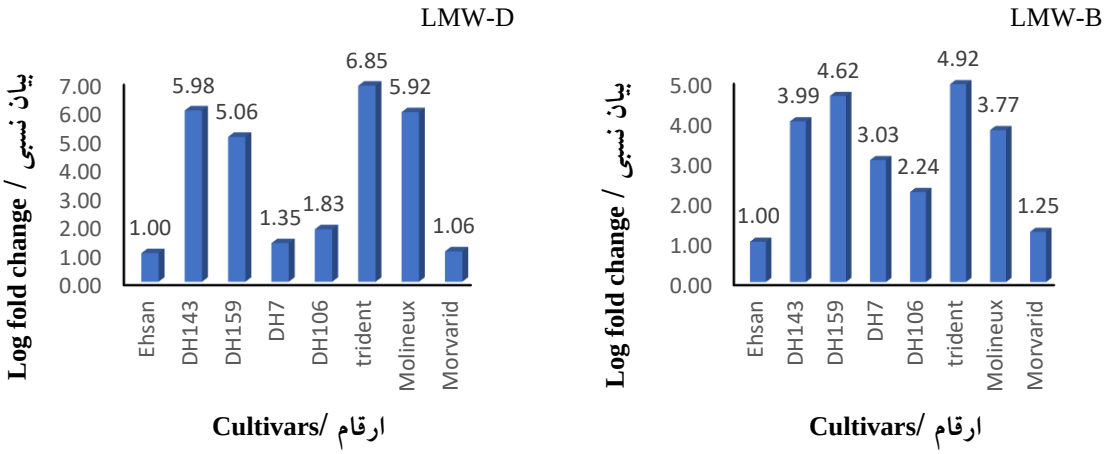
در بیان ژن PDIL نیز لاین‌های دابلدهاپلوئید DH-143 و DH-159 و ارقام والد میزان بیان بالاتری نسبت به ارقام شاهد نشان دادند (شکل ٦). در مطالعه‌ای، وانگ و همکاران (Wang *et al*., 2013) بیان داشتند که زنجیره‌های صحیح پروتئین‌های ذخیره‌سازی بذر، توسط پروتئین‌های PDI تنظیم می‌شوند در نتیجه بیان آن‌ها با ترکیب کیفی گلوتن در ارتباط است. رونویسی زودهنگام ژن‌های PDI می‌تواند باعث بیان راحت‌تر PDI و در نتیجه ذخیره‌سازی HMW-GS و شکل‌گیری گلوتنین پلیمر در حین توسعه بذر شود. طبق نتایج دمسکا و همکاران (Demska *et al*., 2018) بیان شد که بیشترین بیان PDI در مراحل اولیه توسعه دانه می‌باشد و این نتیجه نیازمند تحقیقات بیشتری بر مکانیسم‌های تأثیرگذار بر مقادیر پخت و انتخاب واریته سودآور می‌باشد.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]



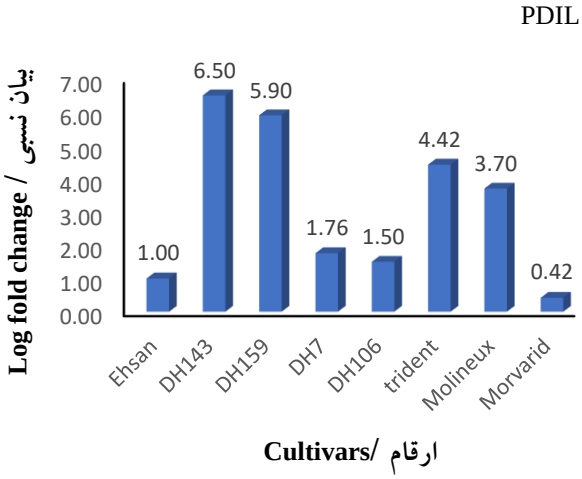
شکل ٤- تغییرات بیان ژن HMW-X و HMW-Y نسبت به شاهد Ehsan

Figure 4. Changing in gene expression of HMW-X and HMW-Y relative to control (Ehsan) treatment



شکل ٥- تغییرات بیان ژن LMW-B و LMW-D نسبت به شاهد Ehsan

Figure 5. Changing in gene expression of LMW-B and LMW-D relative to control (Ehsan) treatment



شکل ٦- تغییرات بیان ژن PDIL نسبت به شاهد Ehsan

Figure 6. Changing in gene expression of PDIL relative to control (Ehsan) treatment

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که خصوصیات کیفی نانوایی از قبیل حجم رسوب زلنی، گلوتن مرطوب، گلوتن خشک، درصد جذب آب و محتوای پروتئین با نوارهای HMW-GS مورد بررسی در آزمون SDS-PAGE و نیز بیان ژن مرتبط با کیفیت نانوایی ارتباط مثبت و معنی‌داری داشته‌اند. به این صورت که لاین‌های دابلدهاپلوئید مطلوب گزینش شده بعد از ارزیابی خصوصیات کیفی که شامل لاین‌های DH-143 و DH-159 می‌باشند در آزمون‌های دیگر نیز برتری قابل‌ملاحظه‌ای داشتند. نتایج حاصل شده از این تحقیق و وجود ارتباط بین نوارهای پروتئینی و همچنین بیان بالای ژن‌های مربوط به کیفیت نانوایی با خصوصیات کیفی، امکان گزینش و انتخاب سریع و مناسب بین ژنوتیپ‌ها را فراهم نموده تا نیاز به آزمایش‌هایی مانند پخت نان که ملزوم به استفاده از آرد بیشتر و همچنین وقت بیشتری می‌باشد را نداشته باشند. لذا از لاین‌های مطلوب انتخاب شده در این پژوهش می‌توان در کارهای اصلاحی مربوط به بهبود کیفیت پروتئین‌های ذخیره‌ای استفاده نمود. همچنین پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی، سایر آزمایش‌های مولکولی تکمیلی و سایر آزمون‌های مربوط به خصوصیات کیفی نیز برای تأیید نتایج فوق انجام شود تا بتوان از طریق مطالعات آزمایشگاهی ارقام یا ژنوتیپ‌های بیشتر و با کیفیت نانوایی مطلوب‌تری شناسایی نمود.

سپاسگزاری

از آزمایشگاه سیتوژنتیک و مهندسی ژنتیک و نیز از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان به‌خاطر کمک‌های مالی و در اختیار قرار دادن امکانات آزمایشگاهی و پرسنلی برای اجرای این پژوهش نهایت تشکر را داریم.

References

Akbari, N., Alavi Kia, S., Norozi, M. and Valizadeh, M. (2017). Relationship between HMW-GS bands and bread making quality traits in recombinant inbred lines derived from a cross between Zagros and Norstar wheat varieties. *Cereal Research*, **7(2):** 185-194 (In Persian).

Allahverdiyev, T.I., Talai, J.M., Huseynova, I.M. and Aliyev, J.A. (2015). Effect of drought stress on some physiological parameters, yield, yield components of durum (Triticum durum desf.) and bread (*Triticum aestivum* L.) wheat genotypes. *Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics*, **1(1):** 50-62.

Arzani, A. (2002). Grain quality of durum wheat germplasm as affected by heat and drought stress at grain filling period. *Wheat Information Service*, **94:** 9-14.

Barnard, A.D., Labuschagne, M.T. and Van Niekerk, H.A. (2002). Heritability estimates of bread wheat quality traits in the Western Cape province of South Africa. *Euphytica*, **127(1):** 115-122.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72(1-2):** 248-254.

Bushuk, W. (1998). Wheat breeding for end product use. *Euphytica*. **100:** 137-145.

Cubadda, R.E., Carcea, M., Marconi, E. and Trivisonno, M.C. (2007). Influence of protein content on durum wheat gluten strength determined by the SDS sedimentation test and by other methods. *Cereal Foods World*, **52(5):** 273-277.

Demska, K., Filip, E. and Skuza, L. (2018). Expression of genes encoding protein disulfide isomerase (PDI) in cultivars and lines of common wheat with different baking quality of flour. *BMC Plant Biology*, **18(1):** 294.

Dencic, S., Mladenov, N. and Kobiljski, B. (2012). Effects of genotype and environment on breadmaking quality in wheat. *International Journal of Plant Production*, **5(1):** 71-82.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

Derakhshan, F., Golkari, S. and Sadeghzadeh, B. (2017). Evaluation of the allelic diversity of high-molecular-weight glutenin subunits by SDS-PAGE in cultivar and dryland promising wheat genotypes. *Crop Science Research in Arid Regions*, **1(2):** 222-233 (In Persian).

D'ovidio, R., Simeone, M., Masci, S. and Porceddu, E. (1997). Molecular characterization of a LMW-GS gene located on chromosome 1B and the development of primers specific for the Glu-B3 complex locus in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, **95(7):** 1119-1126.

FAO. (2019). FAO Cereal Supply and Demand Brief. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/. Accessed 5 December 2019

Finney, K.F., Yamazaki, W.T., Youngs, V.L. and Rubenthaler, G.L. (1987). Quality of hard, soft, and durum wheats. *Wheat and Wheat Improvement*, **13:** 677-748.

Fowler, D.B., Brydon, J., Darroch, B.A., Entz, M.H. and Johnston, A.M. (1990). Environment and genotype influence on grain protein concentration of wheat and rye. *Agronomy Journal*, **82(4):** 655-664.

Ghoreishi, S., Izanloo, A., Parsa, S. and Ghaderi, M.Gh. (2014). Associations between high molecular weight glutenin subunits with bread quality traits of some bread wheat cultivars. *Journal of Cereal Research*, **4(3):** 199-209 (In Persian).

Gozubenli, H. (2010). Nitrogen dose and plant density effects on popcorn grain yield. *African Journal of Biotechnology*, **9(25):** 3828-3832.

ICC Standard Methods. (2008). ICC Standard Methods. ICC Publication. http://old.icc.or.at/standard_methods. Accessed 12 October 2019.

Jockovic, B., Mladenov, N., Hristov, N., Aćin, V. and Djalović, I. (2014). Interrelationship of grain filling rate and other traits that affect the yield of wheat (*Triticum aestivum* L). *Romanian Agricultural Research*, **31:** 81-87.

Joudi, M., Ahmadi, A., Mohammadi, V., Abbasi, A. and Mohammadi, H. (2014). Genetic changes in agronomic and phonologic traits of Iranian wheat cultivars grown in different environmental conditions. *Euphytica*, **196(2):** 237-249.

Katagiri, M., Masuda, T., Tani, F. and Kitabatake, N. (2011). Expression and development of wheat proteins during maturation of wheat kernel and the rheological properties of dough prepared from the flour of mature and immature wheat. *Food Science and Technology Research*, **17(2):** 111-120.

Khodadadi, E., Aharizad, S., Shahbazi, H. and Sabzi, M. (2013). Heritability of some characters related to bread quality of wheat. *Journal of Crop Production and Processing*, **3(7):** 37-46 (In Persian).

Khoshroo, S.M.R., Khavarinejad, R., Baghizadeh, A., Fahimi, H. and Mohammadi, Z.N. (2011). Seed storage protein electrophoretic profiles in some Iranian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars. *African Journal of Biotechnology*, **10(77):** 17793-17804.

Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227(5259):** 680.

Liu, H., Wang, K., Xiao, L., Wang, S., Du, L., Cao, X. and Ye, X. (2016). Comprehensive identification and bread-making quality evaluation of common wheat somatic variation line AS208 on glutenin composition. *PloS One*, **11(1):** e0146933.

Ma, W., Appels, R., Bekes, F., Larroque, O., Morell, M.K. and Gale, K.R. (2005). Genetic characterisation of dough rheological properties in a wheat doubled haploid population: additive genetic effects and epistatic interactions. *Theoretical and Applied Genetics*, **111(3):** 410-422.

Mehr Azar, A., Mohammadi, M., Najafian, G. and Izadi Darbandi, A. (2014). Relationship between high molecular weight glutenin subunits and grain quality traits in bread wheat cultivars. *Behnjadi Journal of Seedlings and Seeds*, **29(4):** 838-823.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]

[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

Meschibahoush, M., Ranjbar, G., Abbasdokht, H. And Najafi Zarrini, H. (2018). Determination of suitable indices for evaluation of drought tolerance in bread wheat double-haploid lines (*Triticum aestivum* L.). *Crop Physiology Journal*. **36(9):** 83-99.

Motamedzadegan, A. and Hadidi, M. (2012). Protein measurement, basics and measurement methods, 1st. *Iran's Agriculture Science*, Tehran, Iran (In Persian).

Najafian, G., Bahraee, S., Baghaee, N., Morteza-Gholi, M. and Babaee-Goli, E. (2008). Bread making quality attributes of Iranian trade cultivars of wheat and their HMW glutenin subunits composition. *The 11th International Wheat Genetics Symposium*, Sydney University Press, Sydney, Australian.

Najafian, G. and Baghaie, N. (2011). Genetic variation in high molecular weight glutenin subunits in parental lines and cultivars of wheat used in breeding programs of cold and temperate agro-climatic zones of Iran. *Seed and Plant Improvement Journal*, 27(3): 305- 322 (In Persian).

Nakamura, H. (2000). The relationship between high-molecular-weight glutenin subunit composition and the quality of japanese hexaploid wheat lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48(7):** 2648-2652.

Omidvar, A., Abasi, H. and GolAbadi, M. (2018). Investigation the effect of high molecular wheat glutenin subunits on some qualitative characteristics of biscuit. *Iranian Journal of Nutrition and Food Industry*, **3:** 76-65 (In Persian).

Parand, M., Yamchi, A., Soltanlu, H. and Zeynalinejad, Kh. (2019). Study of morphological traits and genetic diversity of low molecular wight- glutenin subunits in some bread wheat cultivars using SRAP marker. *Journal of Plant Breeding*, **26:** 55-64 (In Persian).

Rajabi Hashjin, M., Fotokian, M.H., Aghaee sarrizeh, M. and Mohamadi, M. (2014). Evaluation of allelic variation and assessment of quality of seed storage proteins in durum wheats. *Journal of Agricultural Biotechnology*, **5(4):** 17-36.

Rasheed, A., Xia, X., Yan, Y., Appels, R., Mahmood, T. and He, Z. (2014). Wheat seed storage proteins: advances in molecular genetics, diversity and breeding applications. *Journal of Cereal Science*, **60(1):** 11-24.

Rozbicki, J., Ceglińska, A., Gozdowski, D., Jakubczak, M., Cacak-Pietrzak, G., Mądry, W. and Drzazga, T. (2015). Influence of the cultivar, environment and management on the grain yield and bread-making quality in winter wheat. *Journal of Cereal Science*, **61:** 126-132.

Sanchez-Garcia, M., Álvaro, F., Peremarti, A., Martín-Sánchez, J.A. and Royo, C. (2015). Changes in bread-making quality attributes of bread wheat varieties cultivated in Spain during the 20th century. *European Journal of Agronomy*, **63:** 79-88.

Tanaka, H., Toyoda, S. and Tsujimoto, H. (2005). Diversity of low-molecular-weight glutenin subunit genes in Asian common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Breeding Science*, **55:** 349-354.

Wang, P., Chen, H., Mohanad, B., Xu, L., Ning, Y., Xu, J. and Xu, X. (2014). Effect of frozen storage on physico-chemistry of wheat gluten proteins. Studies on gluten, glutenin-and gliadin-rich fractions. *Food Hydrocolloids*, **39:** 187-194.

Wang, S., Yu, Z., Cao, M., Shen, X., Li, N., Li, X. and Yan, Y. (2013). Molecular mechanisms of HMW glutenin subunits from 1Sl genome of *Aegilops longissima* positively affecting wheat breadmaking quality. *PLoS One*, **8(4):** 0058947.

Yan, Y., Hsam, S.L.K., Yu, J., Jiang, Y. and Zeller, F.J. (2003). Allelic variation of the HMW glutenin subunits in *Aegilops tauschii* accessions detected by sodium dodecyl sulphate (SDS-PAGE), acid polyacrylamide gel (A-PAGE) and capillary electrophoresis. *Euphytica*, **130(3):** 377-385.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

Zargani, M., Ranjbar, G. and Ebrahim Nezhad, S. (2015). Molecular assessment of genetic diversity among bread wheat (*Triticum aestivum* L.) doubled haploid lines using SSR markers. *Journal of Crop Breeding*, **7(15):** 88-95 (In Persian).

Zhang, L.L., Zhang, Y.B., Song, Q.J., Zhao, H.B., Yu, H.Y., Zhang, C.L. and Xiao, Z.M. (2008). Study on the quality of NILS of wheat cv. Longfumai 3 possessing HMW-GS Null and 1 subunits. *Agricultural Sciences in China*, **7(2):** 140-147.

Zhong, Y., Xu, D., Hebelstrup, K.H., Yang, D., Cai, J., Wang, X. and Jiang, D. (2018). Nitrogen topdressing timing modifies free amino acids profiles and storage protein gene expression in wheat grain. *BMC Plant Biology*, **18(1):** 1-14.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]

[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]

Investigation of Qualitative Traits and Genes Expression Involved in Bakery Quality for Some of the Bread's Wheat Doubled Haploid Lines

Mohaddeseh Gholami Farahabadi[1], Gholamali Ranjbar[2,*], Ali Dehestani-Kalagar[3] and Nadali Bagheri[2]

1- Former M.Sc. Student, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Sari Agriculture and Natural Resources University, Sari, Iran
2- Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Sari Agriculture and Natural Resources University, Sari, Iran
3- Assistant Professor, Tabarestan Genetics and Biotechnology Institute, Sari Agriculture and Natural Resources University, Sari, Iran

(Received: August 25, 2020 – Accepted: August 1, 2021)

Abstract

Bread's quality depends on wheat flours quality and quantity and for the goal to be achieved, the usage of suitable wheat varieties should be considered. Present study focuses on analyzing doubled-haploid lines of wheat's bread backing quality and the relationship between qualitative traits and glutenins reservoir proteins. In current work, traits related to bread backing quality of 30 doubled-haploid lines of wheat including their parents and two control varieties (Ehsan and Morvarid) were evaluated. SDS-PAGE test was conducted to identify total amount of protein and the relationship between seeds reservoir proteins and qualitative traits, afterward, a test was conducted to evaluate expression of genes involved in bread backing quality. Results showed that there are significant differences on evaluated traits among all wheat's genotypes. The highest volume of Zeleny sediment were related to DH-143 and DH-159 (34 and 31 ml, respectively), the highest amount of wet gluten were attributed to DH-159 and DH-143 (77.8 and 74.85 gr, respectively), the highest amount of dry gluten were attributed to DH-159 and DH-143 (26.21 and 25.11 gr, respectively), the highest amount of water absorption percentage were attributed to DH-159 and DH-143 (51.59 and 49.74%, respectively), and the highest percentage of protein content were attributed to DH-143 and DH-159 lines (with the amount of 18.03 and 17.72% respectively). Analyzing of bread backing quality traits indicated that DH-143 and DH-159 were better than the other genotypes. SDS-PAGE test results pointed that the highest amount of seed's protein is attributed to DH-159 and DH-143 (28.23 and 26.63 µ/gr, respectively). Based on gene expression analysis (using real-time PCR), it was indicated that lines DH-143 and DH-159 had a higher level of expressed than the control treatments for HMW-X, HMW-Y and PDIL genes. Therefore, lines DH-143 and DH-159 could be used in breeding program for optimizing bread backing quality.

Keywords: Gene expression, Protein, Doubled-haploid, Zeleny sediment, SDS-PAGE

* **Corresponding Author, E-mail: ali.ranjbar@sanru.ac.ir**

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2025-01-22]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1400.8.1.6.0]
[DOI: 10.52547/pgr.8.1.10]