

Identification of HMW glutenin subunits in cultivars and promising lines of bread wheat using STS markers

Gholamreza Majdian¹, Mohammadhadi Pahlevani^{*2}, Khalil Zaynali Nezhad³

1. M.Sc. Student of the Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
E-mail: majdian1353@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor of the Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
E-mail: hpahlavani@yahoo.com
3. Assistant Prof. of the Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
E-mail: khalil1381@yahoo.com

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 10.10.2024

Revised: 11.05.2024

Accepted: 11.16.2024

Keywords:

Bakery value,
Cluster,
Electrophoresis,
Gluten,
PCR

ABSTRACT

Background and Objectives: Improving the yield of crops from both quantitative and qualitative aspects has always been the most important goal of breeders. In wheat, the baking quality mainly depends on the amount and type of gluten-forming proteins, especially glutenin. The study aimed to determine bakery quality using STS markers related to high molecular weight glutenin subunits (HMWG) and also to compare grain yield and some morphological traits of wheat genotypes in Golestan province.

Materials and Methods: Seeds of 30 wheat genotypes, including common cultivars and promising wheat lines from Golestan province's Participatory variety selection project was planted in the farm of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources in the form of a complete block design in 3 replications, and at the time of maturity of the plants, evaluation of agricultural traits was performed. In the laboratory, after DNA extraction and staining of PCR products using 10 pairs of STS primers, the total score of HMWG subunits for each genotype was recorded and then analyzed as the quality score of that sample.

Results: Analysis of variance showed significant variation for seed yield, plant height, spike length, number of seeds per spike, number of spikes per square meter and weight of 1000 seeds. The highest seed yield was observed in cultivar Nodel and promising lines N93-9, N93-17, N92-19 and Cross5028. Significant polymorphism was observed for HMWG subunits in Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 loci, so that the quality score of the genotypes was estimated between 6 and 10, and 13 genotypes had received the maximum quality score (10). The size of the obtained bands for the primers and subunits observed in the Chinese spring cultivar (control) was in complete agreement with the results of other researchers. Cluster analysis based on qualitative scores classified the genotypes into four separate clusters. These clusters contained genotypes with good, favorable, medium and poor baking quality, respectively. Valuing the samples from both quantitative and qualitative aspects showed that among the studied 13 genotypes with high grain yield and high-quality score, 5 genotypes with high grain yield and low-quality score, 10 genotypes with low grain yield and high-quality score and 2 genotypes had low seed yield and quality score.

Conclusion: The results showed that the variance for seed yield and other morphological traits as well as polymorphism for HMWG was significant in the studied population. Locating Nodel, Tirgan and Marwarid in the group of high performance and quality varieties indicated their value as a source of desirable genes. This study proved the efficiency of STS markers in improving the average bakery quality wheat and their potential for MAS.

Cite this article: Majdian, Gholamreza, Pahlevani, Mohammadhadi, Zaynali Nezhad, Khalil. 2025. Identification of HMW glutenin subunits in cultivars and promising lines of bread wheat using STS markers. *Journal of Plant Production Research*, 31 (4), 1-22.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JOPP.2024.21491.3054

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

شناسایی زیرواحدهای گلوتین HMW در ارقام و لاین‌های امیدبخش گندم نان با استفاده از نشانگرهای STS

غلامرضا مجدیان^۱، محمدهادی پهلوانی^{۲*}، خلیل زینلی‌نژاد^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: majdian1353@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: pahlavani@yahoo.com

۳. استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: khalil1381@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: بهبود عملکرد محصولات زراعی از دو جنبه کمیتی و کیفیتی همواره مهم‌ترین هدف اصلاحگران بوده است. در گندم، کیفیت نانواپی عمدتاً تابع میزان و نوع پروتئین‌های تشکیل‌دهنده گلوتن بویژه گلوتین می‌باشد. هدف این مطالعه تعیین کیفیت نانواپی با استفاده از نشانگرهای STS مرتبط با زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا گلوتین (HMWG) و همچنین مقایسه عملکرد دانه و برخی صفات ریخت‌شناسی ژنوتیپ‌های گندم در استان گلستان بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۱۹	مواد و روش‌ها: بذور ۳۰ ژنوتیپ گندم شامل ارقام رایج و لاین‌های امیدبخش گندم از طرح انتخاب ارقام مشارکتی استان گلستان در مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در قالب یک طرح بلوک کامل در ۳ تکرار کشت و در زمان رسیدگی بوته‌ها ارزیابی صفات زراعی صورت گرفت. در آزمایشگاه پس از استخراج DNA و رنگ‌آمیزی محصولات PCR با استفاده از ۱۰ جفت آغازگر STS، مجموع امتیاز زیرواحدهای HMWG برای هر ژنوتیپ ثبت و سپس به عنوان امتیاز کیفی آن نمونه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۸/۱۵	یافته‌ها: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنوع معنی‌داری برای عملکرد دانه، ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، تعداد سنبله در مترمربع و وزن هزاردانه وجود داشت. بیش‌ترین عملکرد دانه در رقم نودل و لاین‌های امیدبخش N93-9، N93-17، N92-19 و کراس ۵۰۲۸ مشاهده شد. پلی‌مورفیسم قابل‌توجهی برای زیرواحدهای HMWG در جایگاه‌های ژنی <i>Glu-A1</i> ، <i>Glu-B1</i> و <i>Glu-D1</i> مشاهده گردید، به طوری که امتیاز کیفی ژنوتیپ‌ها بین ۶ تا ۱۰ برآورد شد و ۱۳ ژنوتیپ امتیاز کیفی حداکثر (۱۰) را دریافت نمودند. اندازه باندهای به دست آمده برای آغازگرها و زیرواحدهای مشاهده شده در رقم چینی بهاره (نمونه شاهد) با نتایج سایر پژوهش‌گران مطابقت کامل داشت. تجزیه خوشه‌ای بر مبنای
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۶	
واژه‌های کلیدی: ارزش نانواپی، الکتروفورز، کلاستر، گلوتن، PCR	

امتیازات کیفی، ژنوتیپ‌ها را در چهار کلاستر مجزا دسته‌بندی نمود. این کلاسترها به ترتیب حاوی ژنوتیپ‌های دارای کیفیت نانوبی خوب، مطلوب، متوسط و ضعیف بودند. ارزشگذاری نمونه‌ها از هر دو جنبه کمی و کیفی نشان داد که در بین مورد مطالعه ۱۳ ژنوتیپ دارای عملکرد دانه و امتیاز کیفی بالا، ۵ ژنوتیپ با عملکرد دانه بالا و امتیاز کیفی پایین، ۱۰ ژنوتیپ دارای عملکرد دانه پایین و امتیاز کیفی بالا و ۲ ژنوتیپ دارای عملکرد دانه و امتیاز کیفی پایین بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که در جامعه مورد بررسی واریانس برای عملکرد دانه و سایر صفات مورفولوژیک و هم‌چنین پلی‌مورفیسم برای HMWG قابل‌توجه بود. قرارگیری نودل، تیرگان و مروارید در گروه ارقام دارای عملکرد و کیفیت بالا، بیانگر ارزشمند بودن آن‌ها به‌عنوان منبع ژن‌های مطلوب بود. این مطالعه کارایی نشانگرهای STS در بهبود متوسط کیفیت نانوبی گندم و پتانسیل آن‌ها برای MAS را اثبات نمود.

استناد: مجدیان، غلامرضا، پهلوانی، محمدهادی، زینلی‌نژاد، خلیل (۱۴۰۳). شناسایی زیرواحدهای گلوتمین HMW در ارقام و لاین‌های امیدبخش گندم نان با استفاده از نشانگرهای STS. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۳۱ (۴)، ۲۲-۱.

DOI: 10.22069/JOPP.2024.21491.3054



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

نان گندم سهم قابل توجهی از خوراک مردم جهان را تامین می نماید، زیرا منبعی غنی از کالری و پروتئین مورد نیاز است. طبق گزارشات حدود ۴۰ درصد از کالری و حدود ۵۰ درصد از پروتئین مورد نیاز روزانه هر فرد از این گیاه تامین می شود (۱). در ایران نیز این نان گندم غذای اصلی مردم محسوب می شود. تولید گندم جهان در سال ۲۰۲۱ حدود ۷۷۱ میلیون تن گزارش شده و کشور ایران نیز با تولید حدود ۱۰ میلیون تن رتبه چهاردهم را در بین کشورهای تولیدکننده این محصول به خود اختصاص داد (۲). در همین سال میزان مصرف گندم ایران کمی بیش از ۱۶ برآورد شده بود. از این رو افزایش تولید دانه در واحد سطح و به ویژه بهبود کیفیت نان به اهداف همیشگی اصلاح گران این گونه تبدیل شده اند. بهبود کیفیت به افزایش توامان بهره‌وری در تولید و مصرف گندم منجر می گردد.

کیفیت نانوائی هر نمونه در وهله اول به ترکیب پروتئینی و بازدهی آسیاب شدن دانه گندم و سپس به پخت و خواص کشسانی نان بستگی دارد و بالا بودن آن تأثیر به سزایی بر طعم، مزه و طول مدت نگهداری و همچنین کاهش ضایعات نان خواهد داشت. پروتئین های دانه گندم و عمدتاً گلوٲن موجود در آن نقش مهمی را در کشش پذیری و استحکام خمیر و در نهایت کیفیت نان تهیه شده بر عهده دارند. گلوٲن به مجموعه پروتئین های قابل استخراج از گندم که در آب نامحلول هستند اطلاق می شود. در زمان تهیه خمیر گندم، گلوٲن موجود در آرد تا سه برابر وزن خود آب جذب می نماید و با این کار حالت کشش و الاستیک در خمیر ایجاد می نماید. پروتئین های گلوٲنی نزدیک به ۸۰ درصد پروتئین دانه گندم را تشکیل می دهند و خود بر ۲ نوع گلیادین و گلوٲنین هستند. گلوٲنین در گندم دارای پنج زیرواحد با وزن مولکولی

بالا (HMWG) است و نقش آن ها در تعیین کیفیت نان موجب گردیده تا امروزه ارزیابی وجود آن ها در پروتئین های ذخیره ای به یکی از آزمون های مهم کیفیتی تبدیل شود (۳). زیر واحدهای سنگین گلوٲنین بوسیله ژن های واقع در لوکوس های *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* بازوی بلند کروموزوم شماره یک گندم کد می شوند (۴). پژوهش ها نشان داده اند که این زیرواحدها پلی مورفیسم بالایی نشان می دهند و کم تر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می گیرند (۵، ۶ و ۷). هم چنین مشخص شده است که تنوع در میزان و نوع پروتئین های ذخیره ای دانه مسئول تفاوت های موجود در ارقام مختلف گندم های تجارتي از نظر کیفیت و خواص غذایی آرد است. بنابراین در برنامه های به نژادی، از پروتئین های ذخیره ای دانه به عنوان یک شاخص کلیدی و ارزشمند کیفیتی در گندم استفاده می شود (۸). گندم های قرمز سخت بهاره و پایزه گلوٲن بیش تری دارند و به همین دلیل، کیفیت نانوائی بالاتری دارند زیرا قادر هستند مقدار بیش تری از گازهای حاصل از تخمیر را در خود نگه دارند و در نتیجه، خمیر بهتر ورآمده و حجمش بیش تر می گردد (۹). امروزه تعداد زیادی آلل های کنترل کننده HMWG و آغازگرهای STS اختصاصی برای هر یک از آن ها معرفی شده است که استفاده از آن ها باعث پیشرفت چشمگیر در روش های ارزیابی کیفیت نانوائی گندم و سرعت این گونه پژوهش ها گردیده است (۱۰). نشانگرهای مبتنی بر نقاط نشانمند از هدف (STS) از جمله نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمرز هستند و با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی (معمولاً بیش از ۲۰ نوکلئوتید) ایجاد می شوند. در واقع STS یک ردیف کوتاه و منحصر به فرد است که می توان آن را توسط PCR تکثیر کرد و چون پیش از طراحی آغازگر، عمل توالی یابی آن انجام شده است، یک نقطه نشانمند از توالی نامیده می شود. هم بارز بودن و

کیفیت خوب، ۳۲ درصد از کیفیت متوسط و ۵ درصد از کیفیت ضعیف برخوردار هستند (۱۵). بر اساس گزارش‌های مربوط به ارزیابی ارقام اصلاح شده و ارقام بومی گندم ایرانی در ۱۲ استان، مشخص گردیده است که برخی از ارقام مانند گلستان، خزرا، اینیا و بزوستایا دارای کیفیت بالا و ارقام سبلان، روشن، امید و چهل نیم گزی دارای کیفیت متوسط می‌باشند (۱۶). مطالعه تعدادی از ارقام گندم نان ایرانی به جهت نظر کیفیت نانوائی و فرمولاسیون مناسب خمیر برای تولید نان‌های پهن مانند لواش و تافتون بر اساس تجزیه کیفی، درصد پروتئین و صفات مرتبط با فارینوگراف نشان داد که رقم تجن و مهدوی به ترتیب به عنوان قوی و ضعیف محسوب می‌شوند (۱۷). این مطالعه هم‌چنین نشان داد که در تولید نان‌های بربری، لواش و تافتون در صورتی می‌توان از گندم‌های ضعیف مانند مهدوی استفاده کرد که برای تقویت آن تا ۵۰ درصد از گندم‌های قوی مانند تجن استفاده شود (۱۷). میزان و ترکیب آلی پروتئین‌ها به ویژه گلوتمین و گلیادین با تأثیر بر پایداری، دوام و کیفیت نان‌های پهن، نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان مصرف و کاهش ضایعات آن‌ها دارند.

پاین و همکاران (۱۹۸۱) با استفاده از نتایج آزمایش رسوب SDS^۱ نشان دادند که زیرواحدهای ۱۰+۵ در مکان ژنی *Glu-D1* و زیرواحد ۱ در مکان ژنی *Glu-A1* حجم رسوب بالاتری نسبت به آل‌های مقابل خود (۱۲+۲ و نول) داشته‌اند (۱۴). آن‌ها هم‌چنین نقش مکان ژنی *Glu-B1* را نامشخص گزارش نمودند و به‌طور کلی درجه تأثیر مکان‌های ژنی سه‌گانه بر کیفیت نانوائی را به صورت $Glu-B1 > Glu-A1 > Glu-D1$ بیان کردند (۱۴).

در پژوهشی که توسط رودریگز و کاریلو (۱۹۹۴) با استفاده از ۱۷۴ رقم از گندم‌های نان اسپانیایی با

قابلیت تکرارپذیری بالا از مزیت‌های نشانگرهای STS است و توانمندی آن‌ها برای انتخاب زیرواحدهای گلوتمین HMW توسط پژوهش‌گران به اثبات رسیده است (۱۱). انتخاب به کمک نشانگرهای STS موجب می‌شود تا از گزینش و تولید ارقامی با کیفیت پایین ممانعت گردد، زیرا اطلاعات مفید در مورد کیفیت نانوائی در مراحل اولیه اصلاح و تولید لاین‌ها به دست آید.

هر یک از مکان‌های ژنی *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* که بر روی بازوی بلند کروموزوم‌های *A1*، *B1* و *D1* قرار دارند، دارای دو ژن خیلی نزدیک به هم به نام‌های *Glu-1-1* و *Glu-1-2* هستند که به‌ترتیب زیرواحدهای تیپ X و Y را بر حسب وزن مولکولی رمز می‌کنند. در گندم‌های زراعی به‌طور معمول در مکان ژنی *Glu-A1* هیچ‌گاه زیرواحد Y بیان نمی‌شود و حتی گاهی ممکن است هر دو زیرواحد X و Y بیان نشوند، که برای این حالت آل نول در نظر گرفته می‌شود. تاکنون ۸ آل برای مکان ژنی *Glu-A1*، ۱۱ آل برای *Glu-B1* و ۹ آل برای *Glu-D1* شناسایی شده است (۱۲). از بین زیرواحدهای گلوتمین با وزن مولکولی بالا در مکان ژنی *Glu-B1*، زیرواحد *Bx7* رایج‌ترین است که در تعداد زیادی از ارقام گندم نان و دوروم دیده می‌شود (۱۳). در مکان ژنی *Glu-B1* هر دو زیرواحد یا فقط زیرواحد X بیان می‌شود. در مکان ژنی *Glu-D1* و به‌طور معمول هر دو ژن بیان می‌شوند، بدین ترتیب در گندم‌های نان ۳ تا ۵ نوار در قسمت گلوتمین‌های سنگین (HMWG) مشاهده می‌شود (۱۴). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که گلوتمن ارقامی با همه این زیرواحدها (۵ زیرواحد) در مقایسه با ارقامی است که دارای تنها چهار یا سه زیرواحد باشند قوی‌تر است (۳).

پیرایش‌فر و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی کیفیت گندم‌های ایرانی نشان دادند که ۶۳ درصد نمونه‌ها از

خواهد داد. بدین جهت این مطالعه طراحی گردید تا دستیابی به اطلاعات ژنتیکی مفید و موثر برای بهبود ارزش نانویی در گندم، به‌ویژه شناسایی نشانگرهای STS مرتبط با زیرواحدهای گلوتنین HMW به‌منظور استفاده از آن‌ها در انتخاب به کمک نشانگر (MAS) را تسهیل نماید. مشخصاً اهداف این مطالعه شامل (۱) تعیین ارزش نانویی در ارقام جدید و لاین‌های امیدبخش با استفاده از نشانگر STS مرتبط با زیرواحدهای HMWG، (۲) مطالعه پلی‌مورفیسم نشانگرهای مولکولی STS مرتبط با کیفیت نانویی در ارقام جدید و لاین‌های امیدبخش گندم و (۳) مطالعه تنوع ژنتیکی برای صفات مورفولوژیک و عملکرد دانه بودند.

مواد و روش‌ها

بذور ۳۰ ژنوتیپ گندم نان شامل ارقام رایج، لاین‌های امیدبخش و ارقام وارداتی مورد استفاده در طرح انتخاب ارقام مشارکتی^۱ استان گلستان در اواخر آبان ماه ۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار کشت شدند (جدول ۱). هر کرت آزمایشی متشکل از شش خط ۱۲۰ سانتی‌متری با فاصله ۲۰ سانتی‌متر از هم بود (سطح هر کرت ۱/۲۰ مترمربع بود). تراکم کاشت برای هر کرت برابر با ۳۶۰ دانه در نظر گرفته شد. در طول دوره رشد کنترل علف‌های هرز، کود مصرفی و کنترل آفات و بیماری‌ها مطابق عرف منطقه صورت پذیرفت. صفات زراعی و مورفولوژیک شامل ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، طول سنبله (سانتی‌متر)، تعداد سنبله در مترمربع، تعداد دانه در سنبله، وزن هزاردانه (گرم) و عملکرد دانه (گرم در مترمربع) اندازه‌گیری و ثبت

هدف شناسایی ارتباط بین زیرواحدهای سنگین گلوتن با استحکام آن از طریق اندازه‌گیری ضریب رسوب SDS انجام شد، نشان داده شد که ارتباط معنی‌داری بین ضریب بالاتر رسوب SDS با زیرواحدهای سنگین گلوتنین ۱ و ۲ از مکان ژنی *Glu-A1*، ۱۳+۱۶ و ۸+۷ از جایگاه ژنی *Glu-B1* و زیرواحدهای ۱۰+۵ از مکان ژنی *Glu-D1* وجود دارد (۱۶). همچنین بین ضریب پایین رسوب SDS و زیرواحدهای سنگین گلوتنین نول از مکان ژنی *Glu-A1*، ۸+۶ و ۲۰ از مکان ژنی *Glu-B1*، ۳+۱۳ و ۴+۱۲ و از مکان ژنی *Glu-D1* ارتباط مشاهده گردید (۱۶). بررسی ترکیب آللی ژن‌های کدکننده HMWG در گندم‌های بلاروس نشان داد که در یک جامعه متشکل از ۲۳۶ نمونه زمستانه و ۹۸ نمونه بهاره، ۱۳ آلل در انواع زمستانه و ۱۱ آلل در نمونه‌های بهاره وجود داشت (۱۸). مطالعه گندم‌های نان شامل ۵۲۸ نمونه (از سه استان چین: هبی، هانا و سیچوان) از نظر تنوع ژنتیکی در زیرواحدهای HMWG مشخص نمود که در کل ۱۵ آلل مختلف (سه آلل در *Glu-A1*، ۸ آلل در *Glu-B1* و چهار آلل در *Glu-D1*) و ۳۵ ترکیب آللی در جامعه موجود بود (۶). در مطالعه‌ای که با هدف تعیین نقش زیرواحدهای HMWG بر کیفیت نانویی با آزمایش بر روی ۱۵ رقم مختلف گندم نان صورت گرفت مشخص گردید که آلل‌های *GluA1-1*، *GluB1-7+8* و *GluD1-5+10* موجب ساختار قوی‌تر گلوتن شدند که می‌توان از آن‌ها در تولید ارقامی با کیفیت نانویی بیشتر استفاده نمود (۱۹).

بررسی پژوهش‌های علمی صورت گرفته نشان می‌دهد که در پروژه‌های به‌نژادی که اهداف اصلاحی و حدود آن به‌طور مشخص تعریف شده‌اند، به‌کارگیری نشانگرهای مولکولی مناسب سرعت دستیابی به مواد ژنتیکی پیشرفته و بی‌نقص را افزایش

شد. داده‌پردازی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel و تجزیه‌های آماری توسط نرم‌افزار SAS صورت گرفت. تجزیه خوشه‌ای (به روش UPGMA) و رسم دندروگرام در نرم‌افزار SPSS انجام شد.

جدول ۱- نام، منشاء، شجره، عادت رشدی و اقلیمی ژنوتیپ‌های گندم مورد استفاده در مطالعه کیفیت نانوائی.

Table 1. Name, origin, pedigree, growth habit and climate of wheat genotypes used in the baking quality study.

اقلیم و شرایط کشت Climate and cultivation conditions	عادت رشدی Growth habit	منشاء یا شجره Origin or pedigree	نام ژنوتیپ Name of genotype
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N91-9
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N91-17
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N92-9
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N92-19
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N93-9
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N93-17
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N94-8
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N94-11
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N94-12
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	N94-16
گرم و مرطوب	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش دشت مغان	5028
گرم و مرطوب	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش دشت مغان	10071
گرم و مرطوب شمال	بهاره-زودرس	CIMMYT - رقم	تیرگان
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش در استان گلستان	DH-260
گرم و خشک جنوب فارس	زمستانه-زودرس	CIMMYT - لاین امیدبخش استان	S-90-5
گرم و مرطوب	بهاره-میان‌رس	فرانسه - رقم	Euclide
گرم و مرطوب	پاییزه-میان‌رس	وارداتی، شرکت Limagrain فرانسه	نودل
گرم و مرطوب	پاییزه-میان‌رس	وارداتی، شرکت Limagrain فرانسه	اکورازادو
گرم و مرطوب	پاییزه-دیررس	وارداتی از شرکت saat baulinz اتریش	آنتونیوس
گرم و مرطوب	پاییزه-دیررس	وارداتی از شرکت saat baulinz اتریش	لوکولوس
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	ABUF/7/ALTAR84-CIMMYT	احسان
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	Sha7/Milan	مروارید
گرم و مرطوب شمال	پاییزه-زودرس	BAI-SHUI-WANG/ATRAK	گنبد
گرم و خشک جنوب	بهاره-میان‌رس	CBRD-3/STORK × DICOCCHOIDES	شوش
گرم و خشک جنوب	بهاره-زودرس	SLVS+/PASTOR-CIMIT	برات
زراعت آبی و مناطق معتدل	بهاره-زودرس	KAUZ/PASTOR/PBW343	بهاران
گرم و خشک جنوب	پاییزه-زودرس	OASIS/SKAUZ//4*BCN/3/2*PASTOR	مهرگان
گرم و خشک، جنوب غرب	بهاره-زودرس	(YO-M3-YO-MO-Y05-63858MC),alitta	چمران
زراعت آبی معتدل	پاییزه-زودرس	PASTOR #2/PRL	سیروان
گرم و مرطوب	پاییزه-میان‌رس	وارداتی از فرانسه	رادیا

درصد تعیین شد. فرآورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) روی ژل آگارز ۱/۴ درصد الکتروفورز شدند و پس از قابل رویت شدن با اشعه UV، حضور یا عدم حضور نوارها مشخص گردید. بر مبنای وجود یا عدم وجود نوار، امتیاز کیفیت نانویی ارقام بر حسب همه مکان‌های ژنی پایین (۱۹۸۷) و در محدوده ۱ (کیفیت نانویی ضعیف) تا ۱۰ (کیفیت نانویی بالا) تعریف و مورد تحلیل قرار گرفت (۱۴).

استخراج DNA ژنومی از بافت برگ ۳۰ ژنوتیپ (همراه با رقم چینی بهاره به عنوان شاهد) در مرحله سه برگگی با استفاده از روش CTAB با اندکی تغییر انجام شد (۲۰). آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش شامل ده جفت آغازگر STS بود که مشخصات آن‌ها در جدول ۲ آمده است. نشانگرهای مورد استفاده از شرکت آلمانی Metabion^۱ تهیه گردید. کمیت و کیفیت DNA با روش ژل آگارز ۰/۸

جدول ۲- مشخصات نشانگرهای STS مورد استفاده در مطالعه کیفیت نانویی ژنوتیپ‌های گندم.

Table 2. Characteristics of STS markers used in the study of baking quality of wheat genotypes.

نام آغازگر Name of primer	توالی (۳-ه) Sequence	طول باند تکثیرشده Length of amplified band	دمای اتصال (°C) Annealing temperature	منبع Reference
P1 /P2	F: CGCAACAGCCAGGACAATT R: AGAGTCTATCACTGCCTGGT	Bx17 (669 bp) nonBx17 (Null)	58	Ma et al. (2003)
P3/P4	F: TTCTCTGCATCAGTCAGGA R: AGAGAAGCTGTGTAATGCC	By9 (662 bp) nonBx9 (707 bp)	55.2	Lie et al. (2006)
P5/P6	F: CACTGAGATGGCTAAGCGCC R: GCCTTGGACGGCACCACAAGG	Bx6 (321 bp) nonBx6 (Null)	64	Schwarz et al. (2004)
P7/P8	R: TTAGCGCTAAGTGCCGTCT R: TTGTCCTATTTGCTGCCCTT	By8 (527 bp) non By8 (Null)	64	Lie et al. (2006)
P9/P10	F: GCAGTACCCAGCTTCTCAA R: CCTTGTCTTGTTGTGTC	By16 (3 fragment) non By16 (Null)	62	Lie et al. (2006)
P11 /P12	F: CGAGACAATATGAGCAGCAAG R: CTGCCATGGAGAAGTTGGA	Ax1 (362 bp) Ax2 (344 bp) Ax-null (Null)	59.5	Liu et al. (2008)
P13 /P14	F: GTTGGCCGGTCGGCTGCCATG R: TGGAGAAGTTGGATAGTACC	Dy10 (576 bp) Dy12 (612)	63.5	Smith et al. (1994)
P15 /P16	F: ATGGCTAAGCGCCTGGTCCT R: TGCTGGTCGACAATGCGTCGCTG	Bx7 (2373 bp) non Bx7 (Null)	64	Anderson and Greene (1989)
P17 /P18	F: GCCTAGCAACCTTCACAATC R: GAAACCTGCTGCGGACAAG	Dx5 (450 bp) Dx2 (Null)	63	Anderson et al. (1989)
P19/P20	F: AGATGACTAAGCGGTTGGTTC R: CTGGCTGGCCAACAATGCGT	1Ax(2300bp)	65	Izadi et al. (2012)

نتایج و بحث

نتایج حاصله از تجزیه واریانس عملکرد دانه و سایر صفات نشان داد که ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد دانه، ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، تعداد سنبله در مترمربع و وزن هزاردانه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بودند (جدول ۳). مشاهده واریانس معنی‌دار دلالت بر وجود تنوع ژنتیکی در جامعه مورد بررسی از نظر صفات مورد مطالعه بود که می‌تواند پایه و اساس برای انتخاب والدین تلاقی جهت تولید جوامع متنوع باشد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح یک درصد برای شش متغیر مورد بررسی (عملکرد و اجزای آن به‌همراه ارتفاع بوته) انجام شد (نتایج نشان داده نشده‌اند). در بین همه ژنوتیپ‌ها بالاترین و پایین‌ترین میانگین عملکرد دانه به ترتیب با ۴۸۰/۷۱ و ۱۳۵/۷۸ گرم در مترمربع متعلق به N93-9 و شوش بود. برای ارتفاع بوته N94-12 و کراس ۵۰۲۸ به ترتیب با ۱۰۳/۰۷ و ۸۰/۹۴ سانتی‌متر دارای بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین بودند. بالاترین و پایین‌ترین میانگین طول سنبله به ترتیب متعلق به احسان (۹/۷۹ سانتی‌متر)

و اکورازادو (۷/۱۷ سانتی‌متر) بود. بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین تعداد دانه در سنبله با ۳۱/۰۱ و ۱۲/۸۴ متعلق به تیرگان و شوش بود. برای تعداد سنبله در مترمربع N93-9 و شوش به ترتیب با ۵۳۶/۶۵ و ۲۵۸/۶۸ بالاترین و پایین‌ترین میانگین را در بین همه ژنوتیپ‌ها دارا بودند. در بین همه ژنوتیپ‌ها بالاترین و پایین‌ترین میانگین وزن ۱۰۰۰ دانه در N94-12 (۴۱/۸۱ گرم) و S-90-5 (۲۷/۴۵ گرم) ثبت گردید. وجود چنین اختلافی در عملکرد دانه و سایر صفات زراعی و مورفولوژیک در جامعه مورد بررسی نشان‌دهنده نامشابه بودن ژنوتیپ‌های گندم از نظر توان تولید بود. بدین ترتیب ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برای خصوصیتی که افزایش آن‌ها هدف اصلاحگران است (عملکرد دانه و اجزای آن) و هم‌چنین برای خصوصیتی که کاهش آن موردنظر است (ارتفاع بوته)، جمعیت مناسبی از نظر دستیابی به مواد ژنتیکی به عنوان ارقام دارای ژن‌های مطلوب و یا به عنوان والدین تلاقی محسوب می‌گردد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس عملکرد دانه و اجزای آن برای ۳۰ ژنوتیپ گندم در شرایط مزرعه.

Table 3. The results of analysis of variance for grain yield and its components for 30 wheat genotypes in field conditions.

وزن هزاردانه 1000-grain weight	تعداد سنبله در مترمربع Number of spikes per square meter	تعداد دانه در سنبله Number of seeds per spike	طول سنبله Spike length	ارتفاع بوته Plant height	عملکرد دانه Grain yield	درجه آزادی Degree of freedom	منبع تغییرات Source of variation
0.64	1076.26 ^{ns}	0.41 ^{ns}	0.18**	9.41 ^{ns}	1255.93 ^{ns}	3	بلوک Block
49.79**	22415.92**	45.26**	1.93**	166.97**	28744.18**	29	تیمار Treatment
0.41	480.18	0.47	0.04	4.21	680.81	87	خطا Error
1.80	5.65	2.65	2.55	2.18	7.32	--	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

^{ns}, * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

^{ns}, * and ** indicating non-significance, significant at 5 and 1 percent level, respectively

جدول ۴- امتیاز کیفیت نانوائی ژنوتیپ‌های گندم با استفاده از زیرواحدهای موجود در هر مکان ژنی.

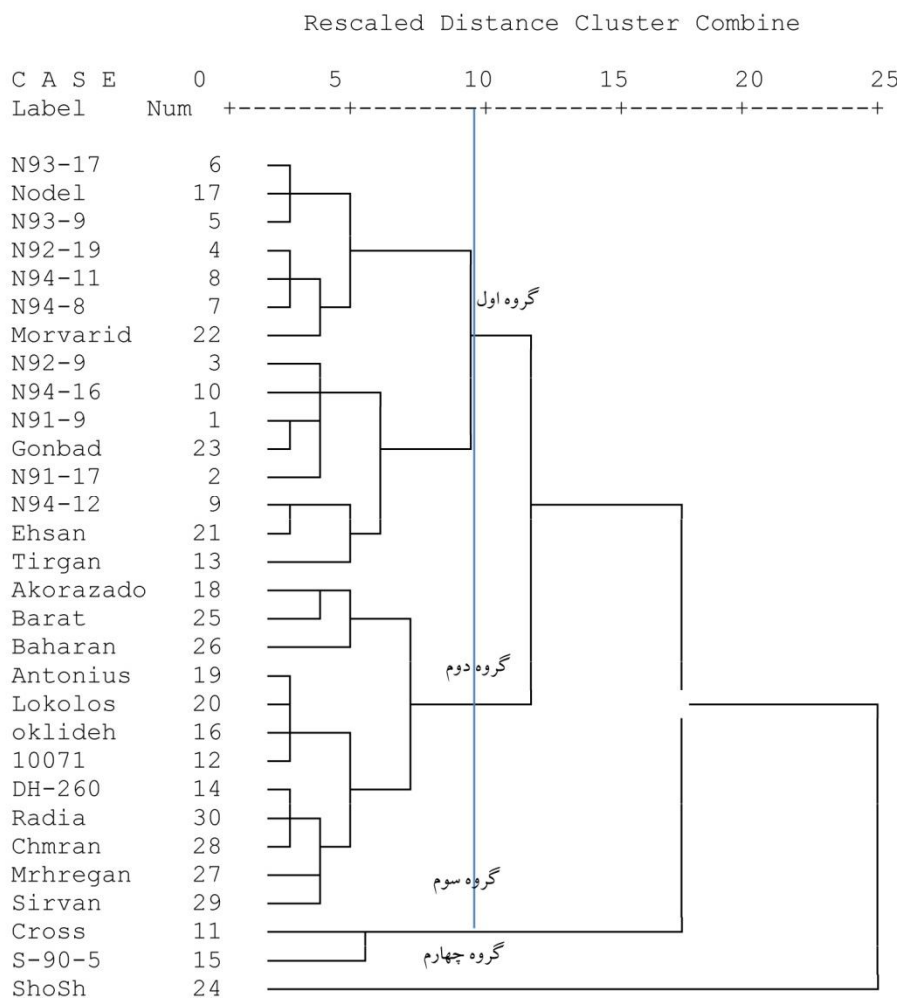
Table 4. Baking quality score of wheat genotypes using subunits in each gene locus.

مجموع امتیاز ژنوم Total score genome	امتیاز ژنومی Genome score			زیر واحد Subunit			ژنوتیپ Genotype	ردیف Case
	Glu-D1	Glu-B1	Glu-A1	Glu-D1	Glu-B1	Glu-A1		
8	2	3	3	12+2	8+7	1	Chinese Spring	1
9	4	2	3	10+5	9+7	1	N91-9	2
10	4	3	3	10+5	18+17	1	N91-17	3
10	4	3	3	10+5	18+17	1	N92-9	4
9	4	2	3	10+5	9+7	1	N92-19	5
9	4	2	3	10+5	9+7	1	N93-9	6
8	2	3	3	12+2	8+7	2	N93-17	7
9	4	2	3	10+5	9+7	1	N94-8	8
10	4	3	3	10+5	18+17	1	N94-11	9
9	4	2	3	10+5	9+7	2	N94-12	10
8	2	3	3	12+2	8+7	1	N94-16	11
8	4	1	3	10+5	8+6	2	Cross5028	12
10	4	3	3	10+5	8+7	2	10071	13
10	4	3	3	10+5	8+7	2	Tirgan	14
10	4	3	3	10+5	8+7	2	DH-260	15
6	2	1	3	12+2	7	2	S-90-5	16
10	4	3	3	10+5	8+7	2	Euclide	17
10	4	3	3	10+5	8+7	2	Nudel	18
7	2	2	3	12+2	9+7	1	Ecurazado	19
10	4	3	3	10+5	8+7	1	Antonios	20
10	4	3	3	10+5	18+17	2	Lokomolos	21
8	2	3	3	12+2	8+7	2	Ehsan	22
10	4	3	3	10+5	18+17	1	Morvarid	23
10	4	3	3	10+5	18+17	1	Gonbad	24
10	4	3	3	10+5	8+7	2	Shoush	25
9	4	2	3	10+5	9+7	2	Barat	26
10	4	3	3	10+5	8+7	2	Baharan	27
9	4	3	3	10+5	9+7	2	Mehrgan	28
9	4	2	3	10+5	9+7	2	Chamran	29
10	4	3	3	10+5	8+7	1	Sirvan	30
8	4	1	3	10+5	7	2	Radia	31

و در صورت نیاز به مواد ژنتیکی متفاوت (همانند انتخاب والدین برای تلاقی) می‌توان از ژنوتیپ‌ها در گروه‌های متمایز (همانند گروه اول و چهارم) استفاده نمود (شکل ۱).

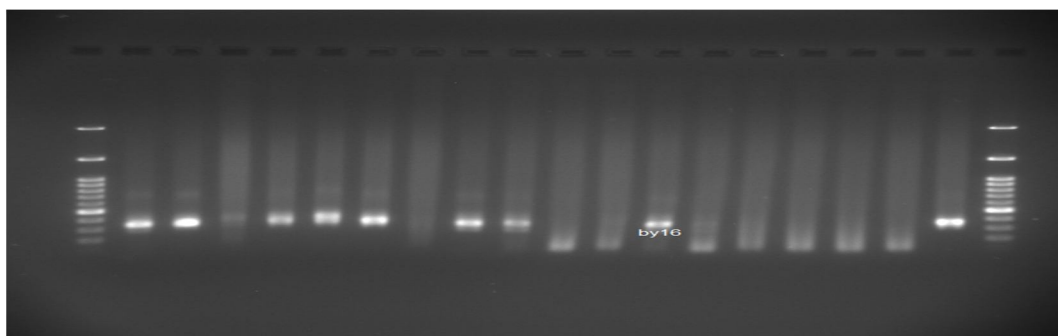
الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای آغازگر STS، بیانگر وجود تفاوت ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه از نظر کیفیت نانوائی بودند، به طوری که امتیاز کیفی آن‌ها بین ۶ تا ۱۰ محاسبه گردید (جدول ۴). همچنین به عنوان نمونه تصویر یکی از ژل‌های الکتروفورز برای محصولات PCR آغازگر P9 و P10 نمایش داده شده است (شکل ۲). جدول ۴ امتیاز کیفی مربوط به هر یک زیر واحدهای موجود در مکان‌ها ژنی HMWG که با روش Payne و همکاران (۱۹۸۷) تعیین شده‌اند را نشان می‌دهد (۲۱). همان‌طور که مشاهده می‌گردد اغلب ژنوتیپ‌ها امتیاز ۸ تا ۱۰ داشتند (جدول ۴). این یافته چندان هم دور از انتظار نبود زیرا مواد ژنتیکی مورد مطالعه ارقام اصلاح‌شده و یا لاین‌های امیدبخش در دست آزدسازی بودند. اعطای امتیاز ژنومی بالا (۸ تا ۱۰) به ارقام گندم ایرانی بر مبنای نشانگرهای STS مرتبط با زیرواحدهای HMWG پیش از این هم گزارش شده است (۲۲). کارائی نشانگرهای STS در تعیین امتیاز ژنومی و شناسایی تفاوت ارقام گندم نان ایرانی به لحاظ کیفیت نانوائی توسط سایر پژوهش‌گران هم گزارش شده است (۲۳ و ۲۴). Shadadeh و همکاران (۲۰۲۰) با مطالعه زیرواحدهای HMWG با استفاده از نشانگرهای STS در جمعیتی از گندم‌های ایران گزارش نمودند که از ۴۳ رقم آزمون شده، امتیازات ژنومی ۱۰ (۱۶ ژنوتیپ)، ۹ (۷ ژنوتیپ)، ۸ (۱۹ ژنوتیپ) و ۶ (۱ ژنوتیپ) اعطاء گردید (۲۴). Song و همکاران (۲۰۲۳) نیز اهمیت و کارائی مارکرهای مولکولی به ویژه انواع STS را در اصلاح گندم نان از طریق انتخاب به کمک نشانگر (MAS) مورد تاکید قرار داده‌اند (۲۵).

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های بررسی از نظر عملکرد دانه، ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد خوشه در واحد سطح، تعداد دانه در خوشه و وزن هزاردانه در شکل ۱ نمایش داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد خط برش دندروگرام را به چهار گروه متمایز تفکیک نمود. گروه اول که ۱۵ ژنوتیپ در خود جای داد، دارای دو زیرگروه بود. زیرگروه اول N93-17، N93-9، N92-19، N94-11، N94-8 و N94-16، N92-9، N91-9، N91-17 و N91-16 بود که ارتفاع و طول سنبله بلند، وزن هزاردانه بالا، تعداد دانه در سنبله و تعداد خوشه در مترمربع بالا و عملکرد بالایی بودند را در خود جای داد و زیرگروه دوم شامل N94-16، N92-9، N91-9، N91-17 و N91-16 بود که ارتفاع و طول سنبله بلند، وزن هزاردانه نسبتاً بالا، تعداد دانه در سنبله و تعداد سنبله در مترمربع نسبتاً بالا و عملکرد نسبتاً بالایی داشتند. احسان، تیرگان و N94-12 علی‌رغم این‌که تعداد سنبله بالایی نداشتند ولی به دلیل عملکرد بالا، در این زیر گروه قرار گرفتند (شکل ۱). در گروه دوم ۱۲ ژنوتیپ جای گرفتند که شامل اکورازادو، برات، بهاران، آتونبوس، لوكولوس، اکلیده، ۱۰۰۷۱، DH-260، رادیا، چمران، مهرگان و سیروان بودند. ژنوتیپ‌های این گروه پاکوتاه بودند، وزن هزاردانه آن‌ها پایین بود، تعداد دانه در سنبله و تعداد سنبله در مترمربع پایینی داشتند و دارای عملکرد دانه متوسط بودند. گروه سوم شامل کراس ۵۰۲۸ و S90-5 بود که به دلیل داشتن تعداد سنبله زیاد در واحد سطح، دارای عملکرد بالایی بودند و چون ارتفاع، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله و وزن هزاردانه بالایی نداشتند در این گروه قرار گرفتند (شکل ۱). گروه چهارم تنها شامل رقم شوش بود که ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزاردانه، تعداد سنبله در مترمربع و عملکرد بالایی نداشت. نتایج تجزیه خوشه‌ای راهنمای مناسبی برای انتخاب مواد ژنتیکی با توجه به هدف پروژه بهنژادی می‌باشد. برای انتخاب مواد ژنتیکی مشابه می‌توان از ژنوتیپ‌های داخل یک گروه بهره برد



شکل ۱- تصویر نمودار تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های گندم با استفاده از روش UPGMA بر اساس عملکرد و سایر صفات مورفولوژیک.

Fig. 1. Dendrogram of cluster analysis of wheat genotypes using the UPGMA method based on yield and other morphological traits.



شکل ۲- تصویر ژل الکتروفورز بخشی از ژنوتیپ‌های استفاده شده در مطالعه تعیین کیفیت نانویی برای آغازگر P9 و P10. (از چپ به راست) به ترتیب: مارکر، نودل، اوکلیده، S-90-5، DH-260، تیرگان، 10071، کراس 5028، N94-16، N94-12، N94-1، N94-8، N93-17، N93-9، N92-19، N92-9، N91-17، N91-9، چینی بهاره و مارکر.

Fig. 2. Image of electrophoresis for a part of the genotypes used in the study to determine the baking quality for P9 and P10 primers.

(From left to right) in order: Marker, Noodle, Euclid, S-90-5, DH-260, Tirgan, 10071, Cross 5028, N94-16, N94-12, N94-1, N94-8, N93-17, N93-9, N92-19, N92-9, N91-17, N91-9, Chinese spring and the marker.

یک باند اختصاصی به طول ۲۳۰۰ جفت باز تکثیر کرده ($Ax1$ و $Ax2$) و ژنوتیپ‌های فاقد این زیرواحد هیچ بانندی در مکان موردنظر تکثیر نکردند. از ۳۰ ژنوتیپ مورد بررسی همگی باند به طول ۲۳۰۰ جفت باز تولید کرده که نشان‌دهنده آلل $Ax1$ یا $Ax2$ بوده که این آلل باکیفیت مطلوب نانوائی در ارتباط است و هیچ ژنوتیپی نول نبود. حضور آلل $Ax1$ یا $Ax2$ یا کیفیت نانوائی خوب در ارتباط است و امتیاز کیفی ۳ برای آن در نظر گرفته می‌شود (۲۶). $Glu-A1$ یکی از ژن‌های شناخته شده‌ای است که برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در گندم نان با موفقیت مورد استفاده محققین قرار گرفته است (۲۵).

آلل‌های کیفیت نانوائی در ژنوم B: الکتروفورز محصولات PCR با جفت آغازگرهای P1 و P2 نشان داد که ژنوتیپ‌های N91-17، N92-9، N94-11، لوکولوس، مروارید و گنبد یک باند با اندازه ۶۶۹ جفت باز تولید کردند که مرتبط با زیرواحد $Bx17$ از مکان ژنی $Glu-B1$ بود؛ سایر ژنوتیپ‌ها حاوی آلل Null بودند (شکل ۳). اندازه باندهای به‌دست آمده در این پژوهش با اندازه مورد انتظار (۶۶۹ جفت باز) که توسط ما و همکاران (۲۰۰۳)، طراحان این آغازگرها، تعیین شده مطابقت کامل داشت (۲۸). از آنجایی که در مکان ژنی $Glu-B1$ زیرواحدهای نوع X و Y با هم بیان می‌شوند، آلل $Bx17$ همیشه با آلل $Bx18$ ظاهر می‌شود و به صورت ترکیب آلی ۱۷+۱۸ تعریف می‌گردند. برای ترکیب آلی ۱۷+۱۸ امتیاز کیفی ۳ (کیفیت نانوائی خوب) در نظر گرفته شده است (۴).

با آغازگرهای P3 و P4، ژنوتیپ‌های N91-9، N92-19، N93-9، N94-8، N94-12، کراس ۵۰۲۸ احسان، مروارید، برات، مهرگان و چمران باند با اندازه ۶۶۲ جفت بازی مرتبط با آلل $By9$ از مکان ژنی $Glu-B1$ را تولید نمودند در حالی که سایر ژنوتیپ‌ها

آلل‌های کیفیت نانوائی در ژنوم A: جفت آغازگر P11 و P12 که توسط لی‌یو و همکاران (۲۰۰۸) طراحی شده است، توالی‌های مرتبط با زیرواحد X در جایگاه ژنی $Glu-A1$ را تکثیر می‌کند (۲۶). این زیرواحد دارای دو آلل $Ax1$ و $Ax2$ است، به طوری که جفت آغازگر P11 و P12 به ترتیب قطعاتی با طول ۳۶۲ و ۳۴۴ جفت باز را برای آن‌ها تکثیر می‌نماید. هر دو آلل $Ax1$ و $Ax2$ زیرواحد دیگر جایگاه $Glu-A1$ ، آلل Y است که معمولاً بیان نمی‌شود، حتی گاهی ممکن هیچ‌یک از آلل‌های X و Y در این مکان بیان نشوند و روی ژل بانندی مشاهده نگردد که به این حالت آلل نول اطلاق می‌شود. در این پژوهش برای ژنوتیپ‌های چینی‌بهاره، N91-9، N94-8، N92-19، N94-11، N94-16، اکورازادو، آنتونیوس، مروارید سیروان و گنبد، باند به اندازه ۳۶۲ جفت باز مشاهده شد که می‌توان نتیجه گرفت این ژنوتیپ‌ها دارای آلل $Ax1$ می‌باشند و ژنوتیپ‌های N91-17، N94-12، کراس ۵۰۲۸، ۱۰۰۷۱، تیرگان، DH-260، S90-5، اوکلیده، نودل، لوکولوس، احسان، شوش، برات، بهاران، مهرگان، چمران و رادیا نیز دارای آلل $Ax2$ هستند و در هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها آلل نول (کیفیت ضعیف) مشاهده نشد. در صورت وجود هر یک از آلل‌های $Ax1$ و $Ax2$ در مکان ژنی $Glu-A1$ امتیاز کیفی ۳ (کیفیت نانوائی خوب) به ژنوتیپ اعطا خواهد شد و در صورت عدم وجود این دو آلل (آلل نول) امتیاز کیفی ۱ (کیفیت نانوائی پایین) در نظر گرفته می‌شود.

جفت آغازگر P19 و P20 مربوط به تکثیر توالی زیرواحد X در جایگاه ژنی $Glu-A1$ با اندازه مورد انتظار ۲۳۰۰ جفت باز می‌باشد که توسط دوویدیو و همکاران (۱۹۹۴) طراحی گردیده است (۲۷). وجود سه آلل $Ax1$ ، $Ax2$ و Null در مکان ژنی $Glu-A1$ به اثبات رسیده است. ژنوتیپ‌های دارای این زیرواحد

مروارید، گنبد، شوش، برات، بهاران و سیروان دارای این زیرواحد بودند و باند اختصاصی ۵۲۷ جفت بازی را تولید نمودند، در حالی که نه ژنوتیپ فاقد این زیرواحد بودند و هیچ بانندی در مکان موردنظر تکثیر نکردند. آلل *By8* معمولا با آلل *Bx7* ظاهر می‌شود و این ترکیب آلی به صورت ۷+۸ نشان داده می‌شود. این ترکیب ارتباط مثبتی با خاصیت کشسانی و مقاومت خمیر دارد و امتیاز کیفی ۳ (کیفیت نانویی خوب) برای آن در نظر گرفته می‌شود (۴).

جفت آغازگر P9 و P10 مرتبط با آلل *By16* در مکان ژنی *Glu-B* است که توسط لی و همکاران (۲۰۰۶) طراحی شده است (جدول ۲) (۲۹). این جفت آغازگر سه قطعه محصول PCR برای ژن *By16* تکثیر می‌نماید و چنانچه هیچ بانندی ایجاد نکنند وضعیت Null در نظر گرفته می‌شود، که به آن زیرواحد *Bx20* نیز اطلاق می‌گردد. در این آزمایش ژنوتیپ‌های N94-12، N94-16، N93-17، 10071، DH-260، تیرگان، اوکلیده، نودل، اکورازادو، آنتونیوس، لوكولوس، احسان و بهاران دارای باندهای مذکور بودند، در حالی که هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها زیر واحد *Bx20* را نداشتند. ژنوتیپ‌هایی که این باندها را نشان دادند دارای زیرواحد *By16* بودند. طبق گزارش‌های داده شده در منابع آلل *By16* همراه با آلل *Bx13* بیان می‌شود که به آن ترکیب آلی ۱۳+۱۶ گفته می‌شود. ترکیب آلی ۱۳+۱۶ تأثیر مثبتی بر قابلیت توسعه خمیر دارد و امتیاز کیفی ۳ (کیفیت نانویی خوب) برای آن در نظر گرفته می‌شود، در حالی که آلل *Bx20* تأثیر نامطلوبی بر قدرت خمیر دارد (۳۳ و ۱۳).

آغازگرهای P15 و P16 مرتبط با گروه زیرواحدهای X در جایگاه ژنی *Glu-B1* می‌باشد که قطعه‌ای به طول ۲۳۷۳ جفت باز را تولید می‌کند. این جفت آغازگر توسط آندرسون و گرین (۱۹۸۹) برای تکثیر زیرواحد *Bx7* طراحی شده است (۳۴). قطعه

دارای باند ۷۰۷ جفت بازی بودند. اندازه باندهای به‌دست آمده در این پژوهش (۶۶۲ جفت باز برای آلل *By9* و ۷۰۷ جفت باز برای آلل *non By9*) با اندازه مورد انتظار که توسط لی و همکاران (۲۰۰۶)، طراحان این آغازگرها، تعیین شده مطابقت کامل داشت (۲۹). زیرواحد *By9* معمولا با زیر واحد *Bx7* ظاهر می‌شود که به آن ترکیب آلی ۷+۹ اطلاق می‌گردد. ترکیب آلی ۷+۹ با قدرت و ارتجاعیت بالای خمیر در ارتباط است و امتیاز کیفی ۲ (کیفیت نانویی متوسط) برای آن در نظر گرفته شده است (۳۰ و ۴). طبق گزارش‌های برنلارد و داردیوت (۱۹۸۵) آلل ۷+۹ با قدرت و ارتجاعیت بالای خمیر در ارتباط است (۳۰). برای جفت آغازگر P5 و P6 تنها کراس ۵۰۲۸ باند با اندازه ۳۲۱ جفت باز (مرتبط با زیرواحد ژن *Bx6* از مکان ژنی *Glu-B*) را تکثیر نمود و بقیه ژنوتیپ‌ها Null (فاقد این زیرواحد) بودند. اندازه باند مشاهده شده در این پژوهش (۳۲۱ جفت باز) با اندازه مورد انتظار که توسط شوارز و همکاران (۲۰۰۴)، طراحان این آغازگرها، تعیین شده مطابقت کامل داشت (۳۱). این آلل تأثیر نامطلوبی بر کیفیت نانویی دارد و ضروری است در برنامه اصلاحی، ژنوتیپ‌های دارای این زیرواحد انتخاب نشوند (۳۲ و ۲۸). بر این اساس امتیاز کیفی ۱ (کیفیت نانویی پایین) برای آن در نظر گرفته شده است (۴).

جفت آغازگر P7 و P8 به‌طور اختصاصی مربوط به آلل *By8* در جایگاه ژنی *Glu-B1* می‌باشد که توسط لی و همکاران (۲۰۰۶) طراحی شده است و قطعه‌ای به طول ۵۲۷ جفت باز در تکثیر مورد انتظار است (جدول ۲) (۲۹). طبق نتایج به‌دست آمده از ژل الکتروفورز برای مواد مورد بررسی، ژنوتیپ‌های چینی بهاره، N93-9، N93-17، N94-8، N94-11، N9412، N9416، 10071، DH-260، اوکلیده، نودل، اکورازادو، آنتونیوس، لوكولوس، احسان،

S90-5، نودل، اکورازادو و احسان قطعه‌ای به اندازه ۶۱۲ جفت بازی (زیرواحد *Dy12*) را تکثیر نمود. طول قطعات تکثیر شده در این مطالعه با طول قطعات مورد انتظار از توالی ژن مطابقت کامل داشت. مکان ژنی *Glu-D1* در بیش‌تر ارقام و ژنوتیپ‌های گندم نان دارای دو جفت آلل *D1x5* و *D1y10* با امتیاز کیفی ۴ (کیفیت خوب نانوائی) و *Dy12* و *IDx2* با امتیاز کیفی دو (کیفیت نانوائی متوسط) تشخیص داده شده است (۲۸ و ۳۸). همراه با زیرواحدهای ۲+۱۲ و ۵+۱۰ جفت زیرواحدهای ۵+۱۲ و ۲+۱۰ (مرتبط با کیفیت نانوائی متوسط) نیز برای مکان ژنی *Glu-D1* در برخی ارقام گندم گزارش شده‌اند. زمانی که هدف اصلاح‌گران بهبود کیفیت نانوائی باشد انتخاب هر کدام از آلل‌های *Dx2* یا *Dx5* به‌تنهایی از طریق انتخاب به کمک نشانگر با فرض این‌که با آلل‌های *Dx12* (کیفیت نانوائی پایین) و *Dx10* (کیفیت نانوائی خوب) پیوستگی دارد ممکن است منجر به اشتباه آللی شود، بنابراین انتخاب به کمک نشانگر برای زیرواحدهای ۲+۱۲ و ۵+۱۰ باید به‌طور هم‌زمان از طریق PCR صورت بگیرد. انتخاب این آغازگرها بر اساس مطالعه احمد (۲۰۰۰) که با استفاده از سه جفت آغازگر اختصاصی به‌منظور بررسی کاربرد روش مبتنی بر PCR مورد آزمون قرار داد، بر روی ۵ رقم مختلف گندم نان برای تفکیک و تشخیص زیرواحدهای خاص انجام شده بود صورت پذیرفت (۳۲). ایشان برای ارقام کلاسیک، هارتوگ و نی‌پا یک قطعه به طول ۵۷۶ جفت بازی را مشاهده کرد که حاوی آلل *Dy10* بوده و نیز برای رقم چینی بهاره یک قطعه ۶۱۲ جفت بازی دارای زیرواحد که دارای زیرواحد *Dy12* بود را مشاهده نمود. نتایج مطالعه حاضر برای رقم چینی بهاره با نتایج احمد (۲۰۰۰) مطابقت کامل داشت (۳۲).

مورد انتظار برای این جفت آغازگر در ژنوتیپ‌های چینی بهاره، N94-11، N94-12، N94-16، N93-17، DH-260، 10071، تیرگان، S-90-5، اوکلیده، نودل، آنتونیوس، لوکولوس، احسان، گنبد، شوش، برات، بهاران، مهرگان، چمران، سیروان و رادیا تولید شد و می‌توان نتیجه گرفت که ژنوتیپ‌های فوق حاوی آلل *Bx7* می‌باشند. جایگاه ژنی *Glu-B1* از تنوع آللی بالاتری نسبت به جایگاه‌های ژنی *Glu-A1* و *Glu-D1* برخوردار است. بر اساس مطالعات احمد (۲۰۰۰) زیرواحد *Bx7* معمولاً با یکی زیرواحدهای *Bly8* و یا *Bly9* پیوستگی دارد (۳۲). بیان شدن این آلل با هریک از زیرواحدهای *Bly8* و یا *Bly9* موجب افزایش قابلیت ارتجاعی و مقاومت خمیر در نتیجه کیفیت مطلوب نانوائی می‌شود (۳۳ و ۳۱). برای ترکیب آللی ۷+۸ امتیاز کیفی ۳ (کیفیت نانوائی ۳) و برای ترکیب ۷+۹ کیفی ۲ (کیفیت نانوائی پایین) در نظر گرفته می‌شود. نتایج حاصله از این پژوهش با نتایج پژوهش اندرسون و گرین (۱۹۸۹) و احمد (۲۰۰۰) مطابقت داشت (۳۲ و ۳۴). به‌کارگیری نشانگرهای STS مرتبط با زیرواحدهای مکان *Glu-B1* در انتخاب به کمک نشانگر (MAS) منجر به ترکیب این ژن‌ها در ریخته ارثی ارقام گندم گردیده است به‌طوری‌که موجب افزایش ۰/۸ تا ۱/۸ درصدی در میزان پروتئین دانه گندم گردیده است (۳۶).

آلل‌های کیفیت نانوائی در ژنوم D: برای مشخص کردن وجود یا عدم وجود ژن‌های کدکننده زیرواحدهای *Dy10* و *Dy12* از مکان ژنی *Glu-D1* جفت آغازگرهای P13 و P14 توسط اسمیت و همکاران (۱۹۹۴) طراحی شده است (۳۷). این دو آغازگر موجب تکثیر قطعه ۵۷۶ جفت بازی برای زیرواحد *Dy10* و قطعه ۶۱۲ جفت بازی برای زیرواحد *Dy12* می‌گردد. به‌کارگیری این آغازگرها برای ژنوتیپ‌های چینی بهاره، N93-17، N94-16،

Glu-D1 دارای زیرواحد ۱۲+۲ باشند از لحاظ کیفیت نانوائی ضعیف هستند.

با این حال در صنایع بیسکویت‌سازی خمیرهایی با گلوتن ضعیف و انبساط‌پذیری بالا مورد نیاز هستند. گندم هندی Nap Hal که یک نژاد بومی محسوب می‌گردد به دلیل وجود آلل Null در هر دو زیرواحد X و Y در جایگاه ژنی *Glu-D1* دارای گلوتن ضعیف و مناسب بیسکویت‌سازی است (۳۹).

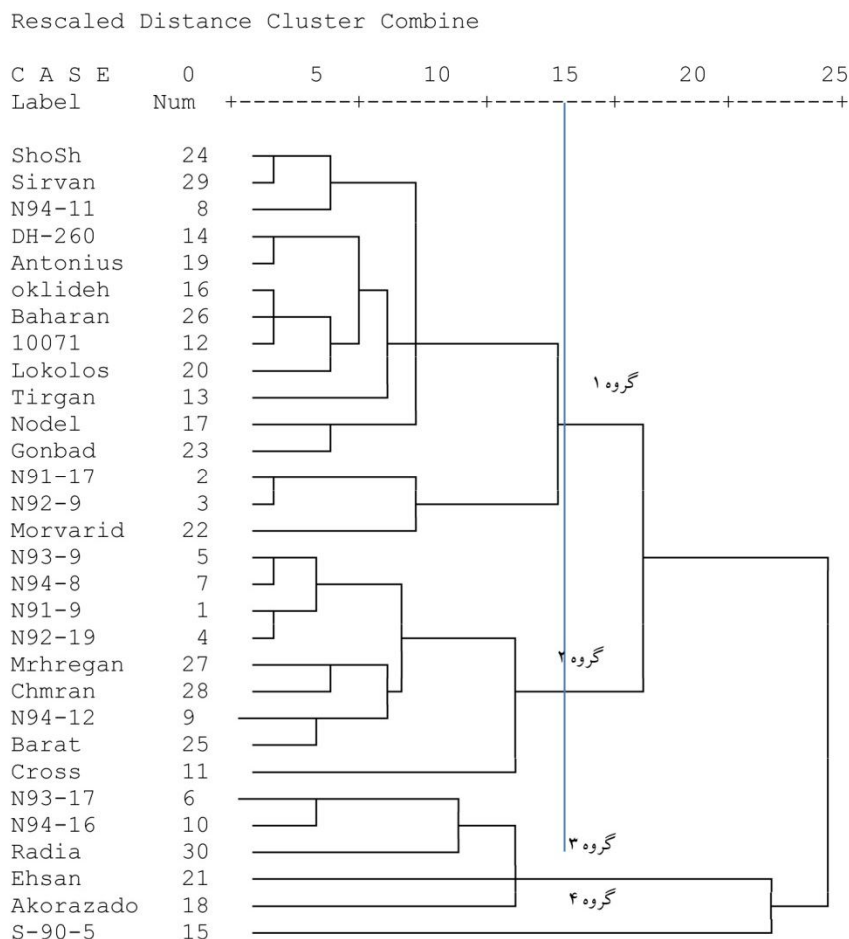
در کل می‌توان ژنوتیپ‌های دارای مجموع امتیاز ژنومی ۹ و ۱۰ را به‌عنوان ژنوتیپ‌های با کیفیت نانوائی بالا در نظر گرفت، بدین ترتیب به‌جزء ژنوتیپ S90-5 که دارای امتیاز کیفی ۶ و آکوزازادو که دارای امتیاز کیفی ۷ بودند بقیه ارقام در رده متوسط تا خوب قرار داشتند (جدول ۴). بدین ترتیب ۳۰ ژنوتیپ مورد بررسی بر حسب امتیازهای کیفی اعطا شده در پنج گروه ۱۰، ۹، ۸، ۷ و ۶ امتیازی قرار گرفتند (جدول ۴). در گروه ۱۰ امتیازی ژنوتیپ‌های N91-17، N92-9، N94-11، N94-11، ۱۰۰۷۱، تیرگان، DH-260، اوکلیده، آنتونیوس، لوكولوس، مروارید، گنبد، شوش، بهاران، سیروان و نودل، در گروه ۹ امتیازی ژنوتیپ‌های N91-9، N92-19، N93-9، N94-8، N94-12، برات، مهرگان و چمران، در گروه ۸ امتیازی ژنوتیپ‌های N93-17، N94-16، N94-12، کراس ۵۰۲۸، رادبا و احسان، در گروه ۷ و ۶ امتیازی به‌ترتیب آکوزازادو و S90-5 قرار داشتند (جدول ۴).

تجزیه خوشه‌ای بر مبنای امتیازات کیفی، ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه تقسیم‌بندی کرد (شکل ۳). گروه اول دندروگرام شامل ۱۵ ژنوتیپ بود که همگی آن‌ها امتیاز کیفی ۱۰ دریافت کردند و از کیفیت نانوائی خوبی برخوردار بودند. ژنوتیپ‌های این گروه خود به دو زیر گروه تقسیم می‌شوند زیر گروه اول شامل ژنوتیپ‌های سیروان، نودل، شوش، N94-11، گنبد، DH-260، آنتونیوس، اوکلیده، لوكولوس، بهاران، ۱۰۰۷۱ و تیرگان است ژنوتیپ‌های این گروه حاوی

جفت آغازگر P17 و P18 توسط اندرسون و گرین (۱۹۸۹) بر اساس زیرواحد *DIX5* در جایگاه ژنی *Glu-D1* طراحی شده که بر روی ژل الکتروفورز تشکیل باند ۴۵۰ جفت بازی را می‌دهد. عدم تکثیر و تولید این باند به‌عنوان آلل S1X2 (آلل Null) در نظر گرفته می‌شود (۳۴). از مواد مورد بررسی در این مطالعه، ۲۴ ژنوتیپ دارای باند موردنظر بودند. این ژنوتیپ‌ها شامل N92-9، N91-17، N91-9، N92-19، N93-9، N93-17، N94-8، N94-11، N94-12، کراس ۵۰۲۸، 10071، تیرگان، اوکلیده، نودل، لوكولوس، مروارید، گنبد، شوش، برات، بهاران، مهرگان، چمران، سیروان و رادبا بودند. زیرواحد *DIX5* با کیفیت خوب نانوائی در ارتباط می‌باشد و امتیاز کیفی ۳ به آن تعلق می‌گیرد در حالی که آلل *Dix2* با کیفیت پایین نانوائی در ارتباط است و امتیاز کیفی ۱ برای آن در نظر گرفته می‌شود. برای رقم چینی بهاره باند مورد نظر مشاهده نشد و این نتیجه با نتایج احمد (۲۰۰۰) مطابقت داشت (۳۲). در پژوهشی که برای یافتن ارتباط بین زیرواحدهای سنگین گلوتنین و استحکام گلوتن توسط شوری و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد، به این نتیجه رسیدند که جایگاه ژنی *Glu-D1* مهم‌ترین لوکوس بوده که در آن زیرواحد ۱۰+۵ دارای ارزش بالا در این ارتباط بود (۱۳). ترکیب آلی ۵+۱۰ دارای بالاترین امتیاز کیفی (امتیاز کیفی چهار) مربوط به زیرواحدهای سنگین گلوتنین با وزن مولکولی بالا هستند (۳۳ و ۴). ژنوتیپ‌هایی که در مکان ژنی *Glu-A* دارای زیرواحدهای *Ax1* یا *Ax2* و در مکان ژنی *Glu-B1* دارای زیرواحدهای ۷+۸، ۷+۹، ۱۷+۱۸ و ۱۳+۱۶ و برای مکان ژنی *Glu-D1* دارای زیر واحد ۱۰+۵ بودند از نظر نانوائی در رده با کیفیت بالا قرار می‌گیرند. هم‌چنین ژنوتیپ‌هایی که در مکان ژنی *Glu-A1* دارای زیرواحد *Ax* نول، در مکان ژنی *Glu-B1* دارای زیرواحد ۸+۶ و برای مکان ژنی

Ax2 بودند. اعضای زیرگروه اول دارای امتیاز کیفی ۹ بودند که با کیفیت نانوائی بالا در ارتباط هستند. زیرگروه دوم یعنی کراس ۵۰۲۸ دارای آلل ۸+۶ به جای ۷+۹ بودند و امتیاز کیفی آن‌ها ۸ بود (شکل ۳). گروه سوم دندروگرام شامل پنج ژنوتیپ با کیفیت متوسط تا خوب بود که به جزء آکورازادو که دارای امتیاز کیفی ۷ است همگی آن‌ها دارای امتیاز ۸ بودند (N93-17، رادیا، N94-16 و احسان). ویژگی مشترک اعضای گروه سوم وجود زیرواحدهای *Dx2* و *Dy12* است. گروه چهارم تنها شامل S90-5 بود که دارای امتیاز کیفی ۶ (کیفیت نانوائی پایین) بود (شکل ۳).

آلل‌های *Ax1* یا *Ax2*، *Bx17* و *By18* یا *Bx7* و *By8* و *Dx5* و *Dy10* می‌باشند. زیر گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های N92-9، N91-17 و مروارید می‌باشد. این گروه حاوی آلل‌های *Ax1*، *Bx17* و *By18* و *Dx5* و *Dy10* بودند (شکل ۳). گروه دوم دندروگرام که شامل ۹ ژنوتیپ بود به دو زیر گروه تفکیک گردید (شکل ۳). زیرگروه اول شامل ژنوتیپ‌های N93-9، N94-8، N91-9، N92-19، که همگی دارای آلل *Ax1*، ۷+۹ و *Dx5* یا *Dy10* بودند، همچنین ژنوتیپ‌های مهرگان، چمران، N94-12، نیز در این گروه قرار دارند که همگی به جای آلل *Ax1* دارای

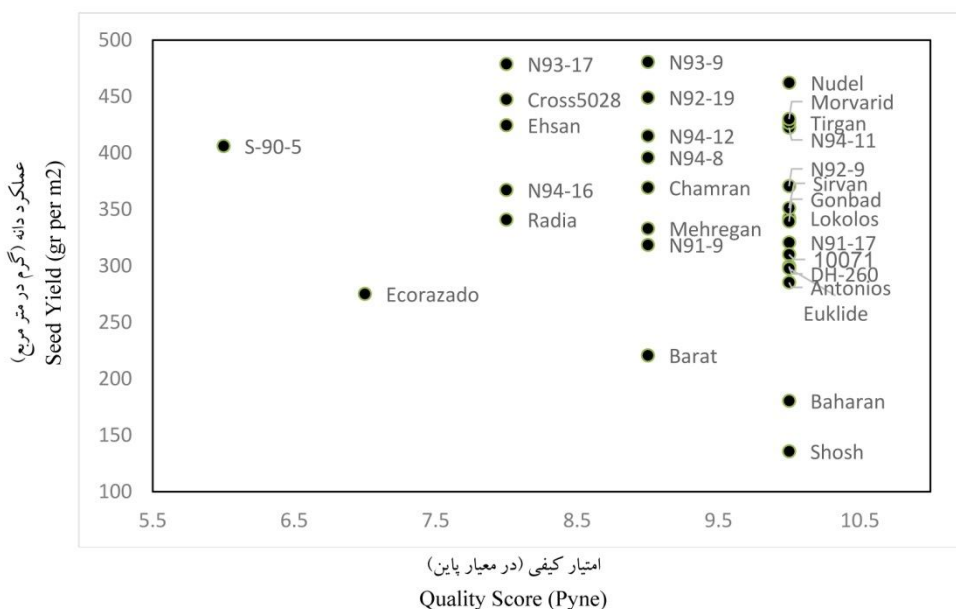


شکل ۳- تصویر نمودار تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های گندم با استفاده از روش UPGMA بر اساس امتیازات ژنومی مربوط به کیفیت نانوائی.

Fig. 3. Image of cluster analysis dendrogram of wheat genotypes using UPGMA method based on genomic scores related to baking quality.

دارای کیفیت نانوائی بالا (امتیاز کیفی بیش از ۸) و عملکرد دانه پایین (کمتر از ۳۵۰ گرم در مترمربع) بودند. بخش سوم از ژنوتیپ‌های N93-17، کراس ۵۰۲۸، احسان، رادیا، N9416، تیرگان و S90-5 تشکیل شد که دارای کیفیت نانوائی ضعیف (امتیاز کیفی کمتر از ۸) و عملکرد دانه خوبی (بیش از ۳۵۰ گرم در مترمربع) بودند. بخش چهارم تنها شامل رقم آکوراژادو بود که هم از نظر عملکرد دانه (کمتر از ۳۵۰ گرم در مترمربع) و هم از نظر کیفیت نانوائی (امتیاز کیفی کمتر از ۸) از وضعیت مطلوبی برخوردار نبود (شکل ۴).

ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این آزمایش بر اساس امتیاز مربوط به کیفیت نانوائی و عملکرد دانه به چهار بخش تفکیک شدند (شکل ۴). بخش اول شامل ژنوتیپ‌های N92-19، N93-9، مروارید، نودل، تیرگان، N94-11، N94-12، N94-8، N92-9 و چمران بودند که هم از نظر کیفیت نانوائی (امتیاز کیفی بیش از ۸) و هم از نظر عملکرد دانه (بیش از ۳۵۰ گرم در مترمربع) دارای وضعیت مطلوبی بودند. بخش دوم شامل ژنوتیپ‌های سیروان، لوكولوس، گنبد، مهرگان، ۱۰۰۷۱، N91-9، N91-17، اکلیده، DH-260، آنتونیوس، برات، بهاران و شوش بود که



شکل ۴- نمودار پراکنش ژنوتیپ‌های گندم بر اساس عملکرد دانه و امتیاز ژنومی کیفیت.

Fig. 4. Scatter plot of wheat genotypes based on grain yield and quality genome score.

ژنوتیپ گندم مورد بررسی، ۱۳ مورد (۸ رقم و ۵ لاین امیدبخش) امتیاز کیفی حداکثر (۱۰) را دریافت نمودند. پلی مورفیسم قابل توجهی برای زیرواحدهای HMWG در جمعیت آزمایشی مشاهده گردید به نحوی که ژنوتیپ‌هایی با امتیاز کیفی ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ شناسایی شدند و جمعیت مورد بررسی پس از تجزیه خوشه‌ای بر مبنای امتیازات کیفی، در چهار

نتایج این مطالعه گروه‌بندی واضحی از ارقام تجارتي و لاین‌های امیدبخش گندم در ارتباط با کیفیت نانوائی نشان داد و بار دیگر توانایی آغازگرهای STS مرتبط با زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا (HMWG) از هر سه جایگاه ژنی *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* را در تشخیص کیفیت نانوائی نمونه‌های گندم به اثبات رسانید. از ۳۰

از نظر عملکرد دانه چندان رضایت‌بخش نبودند و برعکس دسته‌ای دیگر از ژنوتیپ‌ها با این‌که عملکرد دانه بالایی داشتند ولی از نظر کیفیت نانوائی نامطلوب بودند. این‌گونه ژنوتیپ‌ها را می‌توان برای برنامه‌های به‌نژادی که هدف آن‌ها اصلاح کیفیت نانوائی یا بهبود عملکرد دانه است مورد استفاده قرار داد. جای گرفتن نودل، تیرگان و مروارید در دسته ارقام دارای عملکرد و ارزش نانوائی بالا، علاوه بر تأیید دوباره درستی مراحل اصلاح آن‌ها، بیانگر ارزشمند بودن‌شان به عنوان والد دارای ژن‌های افزایش‌دهنده عملکرد گندم نان از دو جنبه کمیتی و کیفیتی بود. هم‌چنین تطابق کامل نتایج نشانگرهای STS در مطالعه حاضر با سایر پژوهش‌های صورت گرفته، مفید بودن آن‌ها در بهبود ژنتیکی جوامع و یا انتقال ژن با روش‌های انتخاب به کمک نشانگر (MAS) را به اثبات رسانید.

کلاستر مجزا دسته‌بندی شدند. این کلاسترها به ترتیب حاوی ژنوتیپ‌های دارای کیفیت نانوائی خوب، مطلوب، متوسط و ضعیف بودند. از نظر صفات زراعی و مورفولوژیک نیز جمعیت مورد بررسی تنوع قابل‌توجهی بروز داد، به‌طوری‌که برخی از لاین‌های امیدبخش دارای بالاترین عملکرد دانه (بیش‌تر از ارقام در دست کشت) شدند که نشان داد این لاین‌ها به‌درستی در وضعیت امیدبخش قرار گرفته‌اند. در این آزمایش ارقام سیروان، تیرگان، مروارید و نودل به‌همراه لاین امیدبخش N94-11 علاوه بر کیفیت خوب نانوائی عملکرد قابل‌قبولی را نیز از خود نشان دادند که می‌توان کشت آن‌ها را در شرایط زراعتی و آب و هوایی استان گلستان به کشاورزان توصیه نمود. برخی از ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه کیفیت نانوائی بالایی از خود نشان دادند در حالی‌که

منابع

- Irannejad, H., & Shahbazian, N. (2004). Cultivation of cereals (first volume), Wheat, Karnoo Press, Tehran, Iran, 272 p. [In Persian]
- FAO. (2021). Available online at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>.
- Curtis, B. C., Sanjaya, R., & Macpherson, H. G. (2002). Bread wheat: improvement and production. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*, Print Book, English, 351 p.
- Payne, P. I. (1987). The genetical basis of bread making quality in wheat. *Aspects of Applied Biology*, 15, 79-90.
- Gale, K. R. (2005). Diagnostic DNA markers for quality traits in wheat. *Journal of Cereal Science*, 41, 181-192.
- Gao, S., Sun, G., Liu, W., Sun, D., Peng, Y., & Ren, X. (2020). High-molecular-weight glutenin subunit compositions in current Chinese commercial wheat cultivars and the implication on Chinese wheat breeding for quality. *Journal Cereals and Grains Association*, 771, 762. **Doi: 10.1002/cche.10290.**
- Lagudah, E. S., Floor, R. G., & Halloran, G. M. (1987). Variation in high molecular weight glutenin subunits in landraces of hexaploid wheat from Afghanistan. *Euphytica*, 36, 3-9.
- Ahmad, M., Griffin, W. B., & Sutton, K. H. (1998). Quantification of glutenin and gliadin as a measure of bread baking quality by size exclusion and reverse phase HPLC. *Wheat Genetics Symposium*, 4, 124-12.
- Bishop, N. I., & Senger, H. (1991). Preparation and photosynthetic properties of synchronous cultures of *Scenedesmus*. *Methods Enzymol*, 23, 53-66.
- Kuchel, H., Fox, R., Reinheimer, J., Mosionek, L., Willey, N., Bariana, H., & Jefferies, S. (2007). The successful application of a marker-assisted wheat breeding strategy. *Molecular Breeding*, 20, 295-308.
- Semgan, K., Bjornstad, A., & Ndji Onjop, M. N. (2006). An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, 5 (25), 2540-2568.

12. Johal, J., Gianibelli, M. C., Rahman, S., Morell, M. K., & Gale, K. R. (2004). Characterization of low molecular-weight glutenin genes in *Aegilops tauschii*. *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1028-1040.
13. Shewry, P., Gilbert, S., Savage, A., Tatham, A., Wan, Y. F., Belton, P., & Halford, N. (2003). Sequence and properties of HMW subunit *1Bx20* from pasta wheat (*Triticum durum*) which is associated with poor end use properties. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 744-750. **Doi:10.1007/s00122-002-1135-6.**
14. Payne, P. I., Holt, L. M., Law, C. N., & Blackman, J. A. (1981). Correlations between the inheritance of certain high molecular weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32, 51-60.
15. Piraeshfar, B., Jalali Kamali, M., Najafian G., Norinia, A., & Lotfalinejad, L. (2005). The quality of bread wheat produced in Iran during the harvest season, Proceedings of the 9th Congress of Agricultural Sciences of Iran, University of Tehran, Aburihan Campus. 289 p. [In Persian]
16. Samiei, M. (2003). The quality of Iranian wheat, Center for research and self-sufficiency of milling, baking and publishing publications affiliated with the Ministry of Industry of Iran, Tehran, 56 p. [In Persian]
17. Irani, P. (2004). Studying the composition of flour and the appropriate formulation of dough for the production of flat breads. *Technical Report*, Research Institute of Agricultural Engineering and Technology, 15 p. [In Persian]
18. Famina, A. A., Malyshev, S. V., Shylava, A. A., Liaudanski, A. D., & Urbanovich, O. Y. (2019). Study of allelic diversity of the gene encoding high molecular weight glutenins in wheat varieties and lines utilizes in the breeding process in the republic of Belarus using PCR markers. *Journal Cytology and Genetics*, 53, 282-293.
19. Aktas, H., & Sener, O. (2020). Effect of HMW and LMW glutenin alleles on quality traits of bread wheat. *Journal Genetika*, 5, 257-271.
20. Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
21. Payne, P. I., Nightingale, M. A., Krattiger, A. F., & Holt, L. M. (1987). The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread making quality of British grown wheat varieties. *Journal of the Sciences of Food and Agriculture*, 40, 51-65.
22. Poorali, R. (2020). Studying the combinability of grain yield and bakery value estimation using STS specific allele markers in wheat cultivars, MSc Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 83 p. [In Persian]
23. Poudine, M., Pahlevani, M., Zeinalinejad, K., & Soghi, H. U. (2015). Determining quality of bread wheat cultivars using protein electrophoresis and STS markers associated with high molecular weight glutenin subunits. *Biological Forum*, 7, 1131-1138.
24. Shadadeh, M., Pahlevani, M., Zenalinezhad, K., Esmaeilzadeh Moghaddam, M., & Bagherikia, S. (2020). Evaluation of baking quality in Iranian bread wheat cultivars using high molecular weight glutenin subunits. *Journal of Crop Production*, 12, 151-160. [In Persian]
25. Song, L., Wang, R., Yang, X., Zhang, A., & Liu, D. (2023). Molecular markers and their applications in marker assisted selection (MAS) in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agriculture*, 13, 642.
26. Liu, S., Chao, S., & Anderson, J. A. (2008). New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 118, 177-183.
27. Dovidio, R., Porceddu, E., & Lafiandra, D. (1994). PCR analysis of genes encoding allelic variants of high-molecular-weight glutenin subunits at

- the *Glu-D1* locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 88, 175-180.
28. Ma, W., Zhang, W., & Gale, K. (2003). Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat. *Euphytica*, 134, 51-60.
29. Li, W., Z. H., Yan, Y. M., Wei, Lan, X. J., & Zheng, Y. L. (2006). Evaluation of genotype X environment interactions in Chinese spring wheat by the AMMI model, correlation and path analysis. *Journal of Agronomy and Crop Sciences*, 192, 221-227.
30. Branlard, G., & Dardevet, M. (1985). Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science*, 3, 345-354.
31. Schwarz, G., Felsenstein, F., & Wenzel, G. (2004). Development and validation of a PCR-based marker assay for negative selection of the HMW glutenin allele *Glu-B1-1d* (*Bx-6*) in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1064-1069.
32. Ahmad, M. (2000). Molecular marker – assisted selection of HMW glutenin alleles related to wheat bread quality by PCR-generated DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 892-896.
33. Lukow, O. M., Payne, P. I., & Tkachuk, R. (1989). The HMW glutenin subunit composition of Canadian wheat cultivars and their association with bread-making quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 46, 451-460.
34. Anderson, O., & Greene, F. (1989). The characterization and comparative analysis of high-molecular-weight glutenin genes from genomes A and B of a hexaploid bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 77, 689-700.
35. Rodriguez, Q. M., & Carrilo, J. (1994). Relationship between high molecular weight glutenin subunits and gluten strength of Spanish landraces of *Triticum aestivum*. *Investigation Agraria, Produccion-Y-Proteccion-Vegetals*, 9, 327-339. [In Spanish]
36. Brar, G. S., Pozniak, C. J., Briggs, C., & Hucl, P. J. (2021). Combined selection of *Gpc-B1* and *Glu-B1* locus encoding the *Bx7^{OE}* subunit for improving end-use quality of hard white wheat. *Journal of Cereal Science*, 100, 103260.
37. Smith, R. L., Schweder, M., & Barnett, R. (1994). Identification of glutenin alleles in wheat and triticale using PCR-generated DNA markers. *Crop Science*, 34, 1373-1378.
38. Payne, R. I., & Lawrence, C. J. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci. *Glu-A1*, *Glu-B1*, and *Glu-D1* which code for high molecular weight subunits of Glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications*, 11 (1), 29-35.
39. Ram, S., Devi, R., Singh, R. B., Narwal, S., Singh, B., & Singh, G. P. (2019). Identification of codominant marker linked with *Glu-D1* double null and its utilization in improving wheat for biscuit making quality. *Journal of Cereal Science*, 90, 102853.