

الگوی پروتئینی تعدادی از ارقام گندم نان در مراحل قبل و بعد از خوشه‌دهی با استفاده از روش SDS-PAGE

زهرا بقایی فر^{۱*}، محسن فرشادفر^۲، سمیرا مستوفی^۳، زهره شیرخانی^۴ و مهدی کاکایی^۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۸/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۵

چکیده

بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس شاخص‌های مولکولی و بیوشیمیایی نقش مهمی در تحقیقات به‌نژادی دارد. الگوهای پروتئینی در راستای تعیین تنوع ژنتیکی کاربرد فراوانی پیدا کرده است. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی و الگوی پروتئینی در ارقام گندم نان قبل و بعد از مرحله خوشه‌دهی، این تحقیق در مزرعه پژوهشی دانشگاه پیام نور اسدآباد اجرا گردید. در این پژوهش ۱۳ رقم گندم نان برای تهیه الگوهای پروتئینی بر اساس الکتروفورز SDS-PAGE مورد استفاده قرار گرفت. الکتروفورز به روش ژل پلی‌اکریل‌آمید به‌صورت ژل پایینی (۱۲٪) و ژل بالایی یا متراکم کننده (۴٪) انجام شد. نوارهای پروتئینی با استفاده از کوماسی بلو رنگ‌آمیزی شدند. تجزیه نوارها بر اساس اعداد صفر و یک با نرم افزار SPSS انجام گرفت. فاصله بر اساس روش اقلیدسی و ضریب شباهت بر اساس Dice انجام گرفت. بیشترین فاصله ژنتیکی در قبل از خوشه‌دهی بین ارقام زارع و گاسکوژن (۸ واحد) است. بین رقم پیشگام و سایشون (یک یعنی صد درصد شباهت) است. کمترین میزان شباهت با عدد ۰/۲ بین ارقام زارع و گاسکوژن بود. بر اساس تجزیه کلاستر تعداد ۱۳ رقم گندم نان به سه گروه تقسیم شدند. نتایج بعد از خوشه‌دهی تا حدود زیادی شبیه الگوی پروتئینی قبل از خوشه‌دهی بود. بین رقم پیشگام و سایشون (یک یعنی صد درصد شباهت) و یا پیشگام و بزوستایا (یک) است. کمترین میزان شباهت با عدد صفر بین ارقام زارع و گاسکوژن و عدد ۰/۲۰۵ بین رقم زارع و بقیه ارقام است. بر اساس تجزیه کلاستر بعد از خوشه‌دهی، تعداد ۱۳ رقم گندم به چهار گروه تقسیم شدند. ارقام زارع، گاسکوژن و امید در کلاسترهای جدا گانه و بقیه ارقام در یک گروه طبقه بندی شدند. افزایش یک گروه بیانگر اثر بعضی از پروتئین‌ها است که در مراحل رشد و نمو قبل و بعد از خوشه‌دهی گندم مؤثر هستند.

واژگان کلیدی: گندم نان، تنوع ژنتیکی، نشانگر بیوشیمیایی، خوشه‌دهی.

z_baghaeifar@pnu.ac.ir

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. (نگارنده‌ی مسئول)

۲- دانشیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

۴- استادیار گروه آموزشی علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

۵- دانشیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) با سطح زیر کشت بیش از ۲۱۸ میلیون هکتار و تولید ۷۹۴ میلیون تن محصول در سال ۲۰۲۲ یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی جهان است (Anonymus, 2020). گندم به دلیل سازگاری گسترده کشت با شرایط مختلف آب و هوایی، سهولت کشت، امکان نگهداری طولانی‌مدت، ارزش غذایی بالا و قابلیت مصرف در اشکال مختلف از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. همچنین، گندم از لحاظ داشتن پروتئین، کربوهیدرات‌ها، چربی، مواد معدنی و ویتامین‌ها نسبت به سایر اقلام خوراکی دارای ارزش غذایی بیشتری است. گندم از جمله محصولات زراعی است که در نتیجه نگهداری مناسب، کیفیت نانوائی آن در اثر اکسیداسیون طبیعی و تشکیل پیوندهای بین‌مولکولی در شبکه پروتئینی بهبود می‌یابد (Naderi *et al.*, 2020; Arzani and Ashraf, 2017).

تنوع ژنتیکی بر اساس SDS-PAGE و واحدهای فرعی پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم توسط محققین مختلف گزارش شده است (Dongjin *et al.*, 2020, Muhammad Farooq *et al.*, 2010). الگوی پروتئینی استخراج پروتئین‌های گلوبولین در مقایسه با آلبومین، دارای نوار پلی پپتیدی کمتری هستند. به‌علاوه، جوانه گندم غنی از گلوبولین ۸S است. علاوه بر این، گلوبولینی به نام تریسیسین نیز در آندوسپرم نشاسته‌ای گندم وجود دارد. پرولامین دارای یک نوار غالب و برخی نوارهای کوچک و پراکنده است. گلوتهن جزو پروتئینی با وزن مولکولی بالا، ۵ نوار پلی پپتیدی اصلی نشان داد که شامل پلی پپتیدها با وزن مولکولی بالا نبودند که این امر احتمال وارد نشدن برخی از ترکیبات پروتئینی با

وزن مولکولی بالا در ژل می‌باشد (Gao *et al.*, 2010).

جعفر آقایی (Jafar aghaei *et al.*, 2013) در پژوهشی که بر روی تعدادی از مورفوتیپ‌های گندم وحشی *Triticum boeoticum* انجام داد در محدوده مکان ژنی Glu-1A در مجموع ۸ الگوی نواری با ۱۰ آلل و در محدوده مکان ژنی Glu-3A نیز ۲۵ الگوی نواری با ۱۳ آلل مشخص کردند. محمد نادم (Nadeem *et al.*, 2016) میزان تغییرات پروتئین‌های گلوتهن (SDS-PAGE) و گلیادین (Acid-PAGE) را در شش رقم گندم بهاره پاکستان در دو فصل زراعی مختلف بررسی و تغییرات پروتئین‌های گلوتهن و واحدهای فرعی آن و گلیادین و واحدهای فرعی آن در فصل زراعی مختلف گزارش و اعلام کردند که اثر فصل در ظهور پروتئین‌ها و واحدهای فرعی آنها معنی‌دار بود. کاکایی (Kakaie, 2018) در پژوهشی بر روی پروتئین محلول برگ ۱۶ ژنوتیپ گندم نان، غلظت پروتئین‌های کل محلول برگ با روش برادفورد و اسپکتروفوتومتری را تعیین کرد. نتایج SDS-PAGE نشان دادند که ژنوتیپ‌های نوید و بک‌کراس روشن زمستانه، همه پلی‌پپتیدهای ایجاد شده بین ژنوتیپ‌های مطالعه شده را داشتند. ژنوتیپ‌های زارع و بک‌کراس روشن زمستانه بیشترین تعداد نوار (۲۳) و ژنوتیپ پیشگام کمترین تعداد نوار (۱۳) را داشت و ژنوتیپ‌های بزوستایا و نوید بیشترین فاصله ژنتیکی را دارا بودند. کاکایی و همکاران (Kakaie *et al.*, 2016) تنوع ۱۶ رقم گندم نان را مطالعه و میزان فاصله ژنتیکی بین گندم‌های مورد مطالعه را گزارش کردند. اندازه‌گیری میزان تنوع ژنتیکی بر اساس مارکرهای بیوشیمیایی پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW) و وزن مولکولی پایین

حاوی نیتروژن به آزمایشگاه حمل و در فریزر دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. عصاره‌گیری و استخراج پروتئین طبق روش لیملی (Leamml, 1970) و غلظت پروتئین طبق روش برادفورد (Bradford, 1976) اندازه‌گیری شد. الکتروفورز به روش ژل پلی‌اکریل آمید به صورت ژل پایینی (۱۲٪) و ژل بالایی یا متراکم کننده (۴٪) انجام شد. پس از بررسی کمیت و کیفیت پروتئین‌ها میزان ۷۰ میکرولیتر پروتئین نمونه به داخل چاهک تزریق شد. پس از انجام الکتروفورز به منظور مشاهده نوارهای پروتئینی، با استفاده از کوماسی بلو (Coomassie brilliant blue) به مدت یک ساعت رنگ‌آمیزی انجام گرفت (Steinberg, 2009). سپس از ژل‌ها به وسیله اسکنر (Quantum ST4) تصویربرداری انجام گرفت و بر اساس حضور (عدد ۱) و عدم حضور نوارها (عدد صفر)، تجزیه آماری نوارها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و NTSIS انجام گرفت. پارامترهای آماری فاصله اقلیدسی و ضریب شباهت Dice طبق فرمول‌های ذکر شده محاسبه شدند (Farshadfar and Farshadfar, 2022).

$$e_{jk} = \sqrt{\sum_{i=1}^2 (X_{ij} - X_{ik})^2}$$

ضریب فاصله اقلیدس

$$C = \frac{\sum_i a_i b_i}{\sum_i a_i \text{sign}(b_i)}$$

where $\text{sign}(x)$ is defined as

$$\text{sign}(x) = \begin{cases} 1 & \text{if } x > 0 \\ 0 & \text{if } x = 0 \\ -1 & \text{if } x < 0 \end{cases}$$

$$C = \frac{\sum_i a_i b_i}{\sum_i a_i \text{sign}(b_i)}$$

where $\text{sign}(x)$ is defined as

(LMW) و کاربرد آنها در برنامه‌های اصلاح نباتات مورد تاکید قرار گرفته است (Nadeem *et al.*, 2016). شناسایی دقیق پروتئین‌ها و بیان ژنهایی که در تکامل و مراحل رشد گیاه اثر دارند از موضوعات بسیار مهمی است که مورد توجه دانشمندان می باشد (Kang *et al.*, 2015; Chu *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2020).

هدف این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی بین ۱۳ رقم گندم نان بر اساس نشانگر پروتئین SDS-PAGE در مراحل رشدی قبل و بعد از خوشه‌دهی است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی بین رقم‌های مختلف گندم نان بر اساس نشانگر پروتئینی SDS-PAGE در مراحل رشد و نمو قبل و بعد از خوشه‌دهی، در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه پیام نور اسدآباد اجرا گردید. این ایستگاه بین مدار ۳۴ درجه و ۳۵ دقیقه تا ۳۴ درجه و ۵۸ دقیقه عرض شمالی و ۴۷ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۴۸ درجه و ۱۸ دقیقه طول شرقی و در ارتفاع ۱۶۰۷ متر از سطح دریا قرار دارد. بذرها ۱۳ رقم گندم نان (جدول ۱) در ۱۳ کرت با مساحت ۲×۲ و با فاصله یک متر از یکدیگر در اواخر مهرماه ۱۳۹۴ کاشته شدند. خاک مزرعه دارای بافت شنی رسی بود. نمونه‌برداری در اواخر اردیبهشت و اوایل خردادماه ۱۳۹۵ انجام گرفت، بدین صورت که برگ‌های ابتدایی متصل به خوشه گندم (برگ پرچم) در مرحله قبل از خوشه‌دهی و مرحله بعد از خوشه‌دهی برداشت شدند. از هر مرحله رویشی حدوداً ۲۰ عدد برگ از هر کرت چیده شده و در ورقه آلومینیومی با ذکر شماره کرت و تاریخ نمونه‌برداری قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در ظرف

نتایج و بحث

با توجه به اینکه مراحل رشد و نمو گیاهان تابع تولید و اثر یک سری پروتئین‌ها است، لذا میزان تنوع ژنتیکی در دو مرحله قبل و بعد از خوشه‌دهی توسط الکتروفورز پروتئین (SDS-PAGE) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

الکتروفورز پروتئین (SDS-PAGE) قبل

از خوشه‌دهی

میزان تنوع (شباهت و فاصله ژنتیکی) بین ۱۳ رقم گندم در جدول شماره ۲ و شکل ۱ نشان داده شده است. بیشترین فاصله ژنتیکی بر اساس فاصله اقلیدسی بین ارقام زارع و گاسکوژن (۸ واحد) است. بعد از این دو رقم فاصله عدد ۷ بین تعداد زیادی از ارقام گندم وجود دارد.

کمترین فاصله ژنتیکی بین ارقامی است که فاصله آنها برابر صفر است، فاصله صفر بین تعداد زیادی از ارقام گندم مشاهده می‌شود. این نتیجه بیانگر شباهت ژنتیکی زیاد بین ارقام گندم است. بیشترین شباهت بر اساس شاخص ضریب دایس بین ارقامی است که مقدار آن یک است. مثلاً بین رقم پیشگام و سایشون (یک یعنی صد درصد شباهت) و یا پیشگام و بزوستایا نیز یک است. کمترین میزان شباهت با عدد ۰/۲ بین ارقام زارع و گاسکوژن است.

هرچه مقدار عدد شباهت بین ارقام کمتر شود مقدار فاصله آنها بیشتر می‌شود (جدول ۲). تعداد ۱۳ رقم گندم زراعی به سه گروه تقسیم شدند. گروه یک شامل ارقام ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۸، ۹، ۱۱، ۱۲ و ۱۳ است. گروه دوم شامل رقم شماره ۷ (امید) و گروه شماره ۳ شامل رقم شماره ۱۰ (زارع) می‌باشد (شکل ۲).

تجزیه الکتروفورز پروتئین SDS-PAGE

بعد از خوشه‌دهی

تنوع ژنتیکی بین ۱۳ رقم گندم در جدول شماره ۳ و شکل ۳ نشان داده شده است. بیشترین فاصله ژنتیکی بین ارقام زارع و گاسکوژن (۸۴/۳۸ واحد) می‌باشد. بعد از این دو رقم، فاصله عدد ۷۱/۳۸ بین تعداد زیادی از ارقام گندم وجود دارد. کمترین فاصله ژنتیکی بین ارقامی است که مقدار آنها فاصله برابر صفر می‌باشد، کمترین فاصله بین تعداد زیادی از ارقام گندم وجود دارد. این نتیجه بیانگر شباهت ژنتیکی زیاد بین ارقام گندم است. شباهت ژنتیکی بین ۱۳ رقم گندم بعد از خوشه‌دهی بر اساس شاخص ضریب دایس در جدول ۳ نشان داده شده است. بیشترین شباهت بین ارقامی است که مقدار آن یک است. مثلاً بین رقم پیشگام و سایشون (یک یعنی صد درصد شباهت) و یا پیشگام و بزوستایا نیز یک است. کمترین میزان شباهت با عدد صفر بین ارقام زارع و گاسکوژن و عدد ۰/۲۰۵ بین رقم زارع و بقیه ارقام می‌باشد. هرچه مقدار عدد شباهت بین ارقام کمتر شود مقدار فاصله آنها بیشتر است.

بر اساس شکل ۴، تعداد ۱۳ رقم گندم به چهار گروه تقسیم شدند. گروه یک شامل ارقام بزوستایا، پیشگام، سایشون، شاه‌پسند، میهن، نوید، روشن، سرخ‌تخم، شهریار و طوس می‌باشد. گروه دو شامل رقم امید، گروه سوم شامل رقم کاسکوژن و گروه شماره چهار شامل رقم زارع می‌باشد. تعداد زیادی از نوارها در همه ژنوتیپ‌ها یکسان بودند که احتمالاً نشانه پروتئین اختصاصی گندم باشد. طبق نتایج به دست آمده در مرحله قبل و بعد از خوشه‌دهی اکثر ارقام گندم نان شبیه به یکدیگر بودند و بالاترین تفاوت در دو مرحله رشد و نمو، بین ارقام زارع و گاسکوژن بود که بیانگر

رقم گندم اسلواکی را برای پیش‌بینی خصوصیات کیفی با روش SDS-PAGE جهت تفکیک پروتئین‌هایی با وزن مولکولی بالا (HMW) و وزن مولکولی پایین مورد ارزیابی قرار دادند. گلوتهین موجود در این ارقام به مقادیر ۱۵/۱۳ درصد وزن مولکولی بالا و ۶۵/۸۹ درصد وزن مولکولی پایین بودند و لکوس‌های GLU-B1 (۳۳٪ ارقام) و لکوس GLU-D1 با دو واحد فرعی در ارقام شناسایی شدند. گاهی اوقات از روش الکتروفرز پروتئین به‌همراه تکنیک‌های مولکولی روش تفکیک و تنوع بین ارقام گندم را با دقت بیشتری انجام می‌دهند.

تنوع ژنتیکی بین ۳۲ لاین پیشرفته گندم در پاکستان بر اساس ۷۲ پرایمر مولکولی RAPD و شاخص بیوشیمیایی SDS-PAGE محاسبه و چند شکلی بالایی بین این لاینها مشاهده شد. ۱۹ واحد فرعی (۲۹-۱۲۰ کیلودالتون) مشاهده گردید (Muhammad Farooq *et al.*, 2010).

عکس‌العمل گیاه به فاکتورهای محیطی در مراحل مختلف رشد گیاه متفاوت است. بیان ژن‌ها در این مراحل نیز یکسان نخواهد بود و این امر در شرایط تنش خشکی باعث کاهش شاخص سطح برگ، تجمع ماده خشک، سرعت رشد محصول، جذب خالص گیاه و سرعت رشد نسبی ذرت گردید. (Fallahi *et al.*, 2013).

روش‌های تلفیقی جدید بیوشیمیایی و مولکولی برای شناسایی دقیق‌تر لاین‌های بسیار شبیه به هم مانند ترکیب SDS-PAGE و HPLC (Jang *et al.*, 2017) و روش‌های پروتئومیکس (Kakaei, 2022) معرفی شده‌اند.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نوارهای پروتئینی حاصل، رقم بزوستایا همگن‌ترین رقم در بین ارقام مورد بررسی

دورتر بودن اجداد این دو گندم از هم (به احتمال زیاد) هستند. البته رقم زارع با همه ارقام مورد آزمایش فاصله ژنتیکی زیادی دارد. در این تحقیق ارقام بزوستایا، پیشگام، سائسون، شاه‌پسند، روشن زمستانه، سرخ تخم، شهریار و توس شباهت بسیار نزدیک و فاصله ژنتیکی کمی دارند و قرابت خویشاوندی آنها زیاد است. لذا برای طرح‌های تلاقی مناسب به نظر نمی‌رسند. هرچه فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها و والدین بیشتر باشد، هتروزیس بیشتری می‌توان مشاهده کرد. در مرحله قبل از خوشه‌دهی ارقام به سه گروه تقسیم شدند، اما در مرحله بعد از خوشه‌دهی گروه چهارم ایجاد شد و ارقام، زارع، امید و گاسکوژن در گروه‌های مستقل قرار گرفتند. گروه یک به دو گروه تقسیم شد که نشانه تغییر در پروتئین‌ها پس از خوشه‌دهی است. یعنی رقم گاسکوژن در مرحله قبل از خوشه‌دهی شبیه به بزوستایا، سائسون و بقیه ارقام که در گروه یک قرار گرفتند. ولی در مرحله بعد از خوشه‌دهی با ارقام داخل گروه تفاوت داشت. کاکایی (Kakaei, 2018) پروتئین محلول برگ پرچم ۱۶ رقم مختلف گندم نان را از نظر وزن مولکولی، تراکم و شدت نوارهای پروتئینی را آزمایش کرد. ارقام امید، روشن زمستانه و زراع بیشترین نوار را داشتند و رقم پیشگام کمترین نوار را دارا بود. در این تحقیق ژنوتیپ‌های نوید، سائسون، پیشگام و امید بیشترین مقدار پروتئین محلول کل را داشتند. در این پژوهش ژنوتیپ‌ها به سه دسته تقسیم‌بندی شدند که رقم بزوستایا، شاه‌پسند و شهریار در گروه اول قرار گرفتند، که نتیجه‌ای شبیه این تحقیق نشان داد. رقم‌های پیشگام و نوید در گروه دوم از این نظر شبیه به مرحله قبل از خوشه‌دهی بودند. دانا و همکاران (Dana *et al.*, 2016) ۱۵

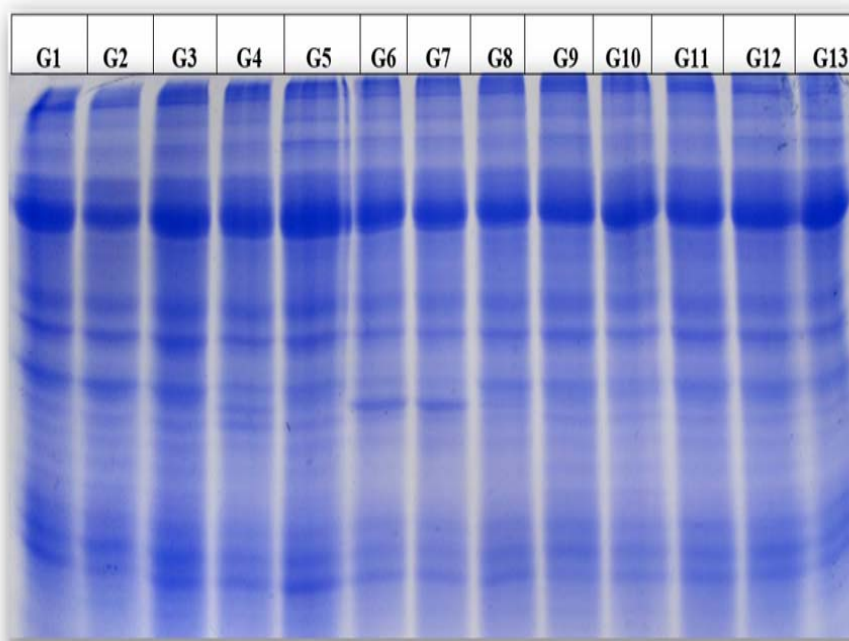
ارقام همگن مانند بزوستایا، شهریار، شاه‌پسند و بک‌کراس روشن زمستانه برای تلاقی مناسب نمی‌باشند، چون فاصله ژنتیکی نزدیکی دارند و نسلی مشابه خود ایجاد می‌کنند.

بود که با بیشتر ارقام شباهت و قرابت نشان داد و شباهت قابل توجهی به رقم شهریار داشت و پس از آن بک‌کراس روشن زمستانه، شاه‌پسند و توس بود. ناهمگن‌ترین ارقام، دو رقم زارع و امید بودند. ارقام ناهمگن برای تلاقی‌های به‌زادی مطلوب‌تر و

جدول ۱- لیست ارقام گندم‌های نان مورد مطالعه

Table 1- List of bread wheat cultivars studied

ردیف Case	Name of wheat	نام گندم نان	ردیف Case	Name of wheat	نام گندم نان
1	بزوستایا	(Bezostay)	8	نوبد	(Navid)
2	پیشگام	(Pishgam)	9	روشن	(Raoshan)
3	سایسون	(Sayson)	10	زارع	(Zare)
4	گاسکوژن	(Gascogen)	11	سرخ تخم	(Sorkh tokhm)
5	شاه‌پسند	(Shahpasand)	12	شهریار	(Shahriar)
6	میهن	(Mihan)	13	طوس	(Toos)
7	امید	(Omid)			



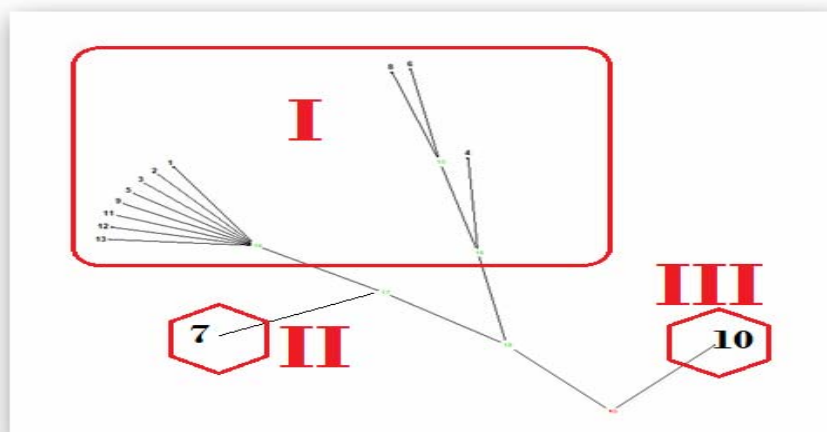
شکل ۱- ژل الکتروفورز پروتئین (SDS-PAGE) قبل از مرحله خوشه‌دهی

Figure 1- Protein gel electrophoresis (SDS-PAGE) before blooming

جدول ۲- ماتریس فاصله (Squared Euclidean Distance) و شباهت (روش Dice) بین ارقام گندم قبل از خوشه‌دهی

Table 2- Distance matrix (Squared Euclidean Distance) and similarity (Dice method) between wheat cultivars before blooming

فاصله → ↓ شباهت	Bezostaya	Pishgam	Saison	Gaskogen	Shah pasand	Mihan	Omid	Navid	Roshan	Zare	Sorkh-Tokhm	Shahriar	Toos
Bezostaya		0	0	3	0	2	3	2	0	7	0	0	0
Pishgam	1		0	3	0	2	3	2	0	7	0	0	0
Saison	1	1		3	0	2	3	2	0	7	0	0	0
Gaskogen	0.82	0.82	0.82		3	1	4	1	3	8	3	3	3
Shah pasand	1	1	1	0.82		2	3	2	0	7	0	0	0
Mihan	0.89	0.89	0.89	0.94	0.89		3	0	2	7	2	2	2
Omid	0.80	0.80	0.80	0.71	0.80	0.80		3	3	4	3	3	3
Navid	0.89	0.89	0.89	0.94	0.89	1	0.80		3	7	2	2	2
Roshan	1	1	1	0.82	1	0.89	0.80	0.89		7	0	0	0
Zare	0.36	0.36	0.36	0.20	0.36	0.36	0.50	0.36	0.36		7	7	7
Sorkh-Tokhm	1	1	1	0.82	1	0.89	0.80	0.89	1	0.36		0	0
Shahriar	1	1	1	0.82	1	0.89	0.80	0.89	1	0.36	1		0
Toos	1	1	1	0.82	1	0.89	0.80	0.89	1	0.36	1	1	



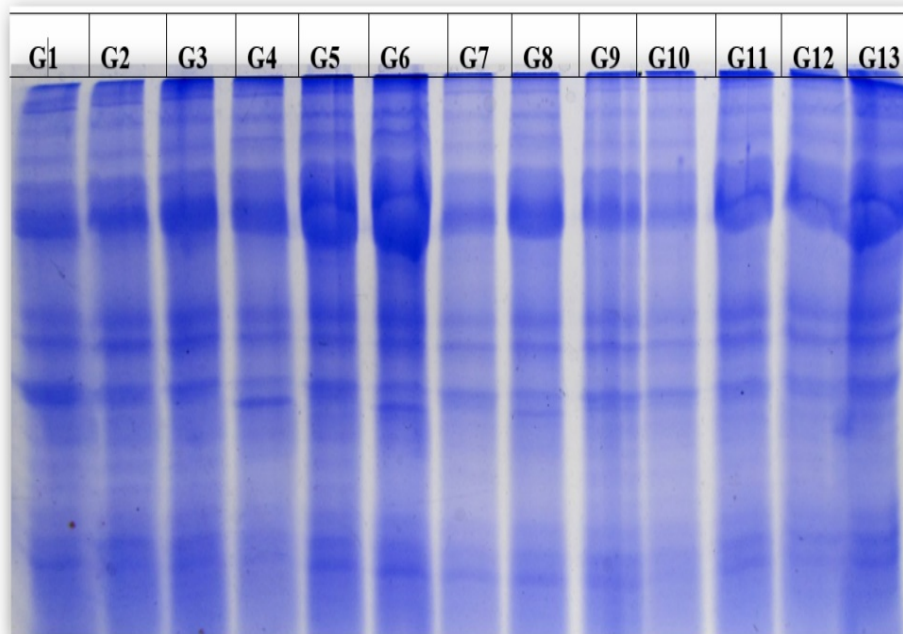
شکل ۲- نمودار درختی (دندروگرام) گروه‌بندی ارقام گندم بر اساس پروتئین SDS-PAGE قبل از خوشه‌دهی

Figure 2- Dendrogram of wheat cultivars grouping based on protein SDS-PAGE before blooming

جدول ۳- ماتریس فاصله (Squared Euclidean Distance) و ضریب شباهت (Dice) بین ارقام گندم بعد از خوشه‌دهی

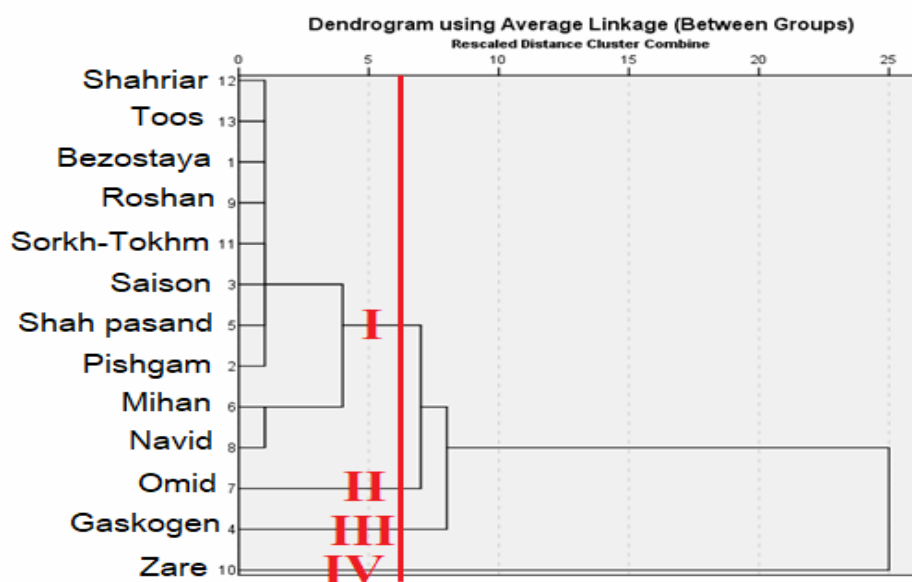
Table 3- Distance (Squared Euclidean Distance) and similarity (Dice) between wheat cultivars after blooming

فاصله → ↓ شباهت	Bezostaya	Pishgam	Saison	Gaskogen	Shah pasand	Mihan	Omid	Navid	Roshan	Zare	Sorkh-Tokhm	Shahriar	Toos
Bezostaya		0.00	0.00	22.10	0.00	9.10	18.08	9.10	0.00	70.08	0.00	0.00	0.00
Pishgam	1.00		.00	22.10	0.00	9.10	18.08	9.10	0.00	70.08	0.00	0.00	0.00
Saison	1.00	1.00		22.10	0.00	9.10	18.08	9.10	0.00	70.08	0.00	0.00	0.00
Gaskogen	0.78	0.78	0.78		22.10	13.00	32.38	13.00	22.10	84.38	22.10	22.10	22.10
Shah pasand	1.00	1.00	1.00	0.78		9.10	18.08	9.10	0.00	70.08	0.00	0.00	0.00
Mihan	0.86	0.86	0.86	0.93	0.86		19.38	0.00	9.10	71.38	9.10	9.10	9.10
Omid	0.75	0.75	0.75	0.64	0.75	0.75		19.38	18.08	52.00	18.08	18.08	18.08
Navid	0.86	0.86	0.86	0.93	0.86	1.00	0.75		9.10	71.38	9.10	9.10	9.10
Roshan	1.00	1.00	1.00	0.78	1.00	0.86	0.70	0.86		70.08	0.00	0.00	0.00
Zare	0.21	0.21	0.21	0.00	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21		70.08	70.08	70.08
Sorkh-Tokhm	1.00	1.00	1.00	0.78	1.00	0.86	0.75	0.86	1.00	0.21		0.00	0.00
Shahriar	1.00	1.00	1.00	0.78	1.00	0.86	0.75	0.86	1.00	0.21	1.00		0.00
Toos	1.00	1.00	1.00	0.78	1.00	0.86	0.75	0.86	1.00	0.21	1.00	1.00	



شکل ۳- ژل الکتروفورز پروتئین (SDS-PAGE) بعد از مرحله خوشه‌دهی

Figure 3- Protein gel electrophoresis (SDS-PAGE) after blooming



شکل ۴- دندروگرام گروه بندی ارقام گندم بعد از خوشه‌دهی

Figure 4- Dendrogram of wheat cultivar grouping after blooming

References

منابع مورد استفاده

- Anonymus. 2020. Food and Agriculture Organization (FAO), 2020. FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat>.
- Arzani, A., and M. Ashraf. 2017. Cultivated ancient wheats (*Triticum* spp.): A potential source of health-beneficial food products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16: 477-488. doi:10.1111/1541-4337.12262.
- Bradford, MM. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254. doi: 10.1006/abio.1976.9999.
- Chu, L., C. Yang, F. Zhuang, Y. Yingmiao Gao, and M. Luo. 2022. The HDA9-HY5 module epigenetically regulates flowering time in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Cell Physiology*. 237(7): 2961-2968. doi:10.1002/jcp.30761
- Dana, M., M.G. Zdenka, P. Lenka, and C. Milan. 2016. Polymorphism of proteins in selected Slovak winter wheat genotypes using SDS-PAGE. *Journal of Central European Agriculture*. 17(4): 970-985. doi: 10.5513/JCEA01/17.4.1800.
- Dongjin, S., C. Jin-Kyung, L. So-Myeong, N. Rolly Kabange, and L. Jong-Hee. 2020. Rapid and easy high-molecular-weight glutenin subunit identification system by lab-on-a-chip in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants*. 9: 1517- 1531. doi:10.3390/plants9111517.
- Fallahi, G., A. Hatami, and R. Naseri. 2013. Growth analysis of six corn hybrids under drought conditions in Kermansh Province, Iran. *Journal of Crop Ecophysiology*. 7(2): 181-196. (In Persian).
- Farshadfar, E., and M. Farshadfar. 2022. Methods of multivariate statistical analysis. Payame Noor Publication Centre. Tehran, Iran. (In Persian).
- Gao, L., W. Ma, J. Chen, K. Wang, J. Li, S. Wang, F. Bekes, R. Appels, and Y. Yan. 2010. Characterization and comparative analysis of wheat high molecular weight glutenin subunits by SDS-PAGE, RP-HPLC, HPCE, and MALDI-TOF-MS. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 58: 2777–2786. doi: 10.1021/jf903363z.
- Jafar aghaei, M., M. Zolal, and M. Jafar Aqaei. 2013. Assessing genetic diversity in wild morphotypes of Iranian *Triticum boeoticum* according to the allelic variation of Glu-1A and Glu-3A gene loci. *Agricultural Biotechnology Journal*. 5(1): 135-148. doi: 10.22103/JAB.2013.1189.
- Jang, Y.R., H.R. Meom, B. Susan Altenbach, L. Min-Ki, L. Sun-Hyung, and L. Jong-Yeol. 2017. Improved method for reliable HMW-GS identification by RP-HPLC and SDS-PAGE in common wheat cultivars. *Molecules*. 22(7): 1055-1066. doi: 10.3390/molecules22071055.
- Kakaei M., F., Moradi, and H. Sherbar. 2016. Study of the endosperm protein alleles diversity of some bread wheat cultivars using SDS-PAGE. *Biotechnology in Agriculture*. 15(2):77-83. (In Persian).

- Kakaei, M. 2018. Study of allelic variation by SDS-PAGE in bread wheat leaf tissue. *Iranian Journal of Plant Biology*. 9(4): 25-38. (In Persian). doi:10.22108/IJPB.2017.104257.1024.
- Kakaei, M. 2022. Plant proteomics and industrial oil plants. *Agrotechniques in Industrial Crops*. 2(4): 213-220. (In Persian). DOI:10.22126/ATIC.2023.8688.1082.
- Kang, M.J., H.S. Jin, Y.S. Noh, and B. Noh. 2015. Repression of flowering under a noninductive photoperiod by the HDA9-AGL19-FT module in Arabidopsis. *New Phytology*. 206(1): 281-294. (In Persian). doi: 10.1111/nph.13161.
- Leammli, U.K. 1970. Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685. doi:10.1038/227680a0.
- Muhammad Farooq, A., M. Iqbal, M. Shahid Masood, M. Ashiq Rabbani, and M. Munir. 2010. Assessment of genetic diversity among Pakistani wheat (*Triticum aestivum* L.) advanced breeding lines using RAPD and SDS-PAGE. *Electronic Journal of Biotechnology*. 13(3): 1-10. doi: 10.2225/vol13-issue3-fulltext-2.
- Nadem, M., F.M. Anjum, M.R. Khan, M. Sajjad, Sh. Hussain, and M. Sajid Arshad. 2016. Electrophoretic characteristics of gluten proteins as influenced by crop year and variety. *International Journal of Food Properties*. 19:897-910. doi: 10.1080/10942912.2015.1045518.
- Naderi, F., F. Bavanpori, E. Farshadfar, and M. Farshadfar. 2020. Screening and Identification of drought tolerant bread wheat landraces (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*. 54(2): 275-292. (In Persian). doi: 10.30495/jcep.2020.676143.
- Steinberg, T.H. 2009. Protein gel staining methods: An introduction and overview. *Method Enzymol*. 463: 542-563. doi: 10.1016/S0076-6879(09)63031-7.
- Yang, L., X. Chen, Zh. Wang, Q. Sun, A. Hong, A. Aiqin Zhang, X. Zhong, and X. Hua. 2020. HOS15 and HDA9 negatively regulate immunity through histone deacetylation of intracellular immune receptor NLR genes in Arabidopsis. *Journal of New Phytology*. 226(2): 507-522. doi: 10.1111/nph.16380.

Research Article

DOI:10.30495/JCEP.2023.1926815.1787

Protein Pattern of Bread Wheat Cultivars Before and After Flowering Using SDS-PAGE Technique

Zahra Baghaeifar^{1*}, Mohsen Farshadfar², Samira Mostofi³, Zohreh Shirkhani⁴ and Mehdi Kakaei⁵

Received: April 2021, Revised: 18 November 2021, Accepted: 1 February 2022

Abstract

Protein patterns of SDS-PAGE have been widely used to determine genetic variation in cereals. This study was carried out at The Payame-Noor University of Asadabad to study genetic diversity and protein pattern in bread wheat cultivars before and after flowering. 13 bread wheat cultivars were applied to prepare protein patterns based on SDS-PAGE electrophoresis. The highest genetic distance before bolting was between Zare and Gascogen (8 units). The lowest genetic distance before flowering was between cultivars with a distance equal to zero. This result indicates high genetic similarity between wheat cultivars. The most similarity between the cultivars is the value of one, such as Pishgam and Sayson (one means one hundred percent similarity) or Pishgam and Bezustaya (with one). The least similarity is 0.2 between Zare and Gascogen. Based on cluster analysis these 13 bread wheat cultivars were divided into three groups. The results after bolting were largely similar to the protein pattern before blooming. The most similarity between the cultivars is the value of one. Pishgam and Sayson was one hundred percent similar, and Pishgam and Bezustaya as well. The lowest similarity was observed between Zare and Gascogen cultivars with zero and 0.25 between Zare and other cultivars. Based on cluster analysis, 13 wheat cultivars were grouped into four clusters. Zare, Gascogen and Omid cultivars were placed in separate clusters and the rest of the cultivars were classified in one group. Increasing one group indicates the effect of some proteins that are effective in the developmental stages before and after wheat flowering.

Key words: Biochemical markers, Bread wheat, Flowering, Genetic diversity.

1- Assistant Prof., Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

2- Associate Prof., Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.

3- MSc. Student of Payame Noor University, Tehran, Iran.

4- Assistant Prof., Department of Plant Science, Faculty of Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran.

5- Associate Prof., Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.

*Corresponding Author: z_baghaeifar@pnu.ac.ir