دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی

تحقیقات غلات
سال چهارم/ شماره سوم/ ۱۳۹۳ (۲۰۹-۱۹۹)

ارتباط بین ترکیب آللی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا با صفات کیفی دانه در برخی از ارقام گندم نان

صادق قریشی[۱]، علی ایزانلو[۲*]، سهیل پارسا[۲] و محمدقادر قادری[۲]

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۳۰- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۱۵)

چکیده

به منظور ارزیابی تنوع زیر واحدهای گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW-Gs) در مکان ژنی *Glu*-1 و ارتباط بین ترکیب‌های آللی مختلف با صفات کیفی دانه، ۲۵ رقم گندم نان (۲۲ رقم رایج کشت در ایران و ۳ رقم استرالیایی) با استفاده از روش SDS-PAGE در سال ۱۳۹۱ در دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع ۱۴ آلل و نه ترکیب آللی در گندم‌های نان مورد مطالعه تشخیص داده شدند. در مکان ژنی *Glu*-A1، فراوانی زیر واحد *۲، زیر واحد نول و زیر واحد ۱ به ترتیب ۵۲، ۳۶ و ۱۲درصد بود. در مکان ژنی *Glu*-B1، ترکیب‌های آللی ۸+۷ و ۱۶+۱۳ به ترتیب با ۴۰ و ۸ درصد بیشترین و کم‌ترین فراوانی را داشتند. در مکان ژنی *Glu*-D1 نیز ۴۰ درصد ارقام دارای ترکیب آللی ۱۰+۵ و ۶۰ درصد بقیه دارای ترکیب آللی ۱۲+۲ بودند. میانگین کلی امتیاز کیفیت گندم‌های نان بر اساس زیر واحدهای گلوتنین سنگین برابر با ۷/۷۶ از ۱۰ شد که از نظر کیفیت در رتبه نسبتاً خوبی قرار دارند. در این بررسی، گندم‌های نان کوکری، گلادیوس، اسکلیبر (ارقام استرالیایی)، وری‌ناک و زرین با امتیاز کیفیت برابر با ۱۰ دارای بالاترین امتیاز کیفیت و ارقام الموت و هامون با امتیاز ۵ دارای پایین‌ترین امتیاز کیفیت بر اساس زیر واحدهای گلوتنین سنگین بودند. بر اساس نتایج تجزیه واریانس و رگرسیون گام به گام، زیر واحدهای ۱، ۱۶+۱۳ و ۱۰+۵ اثر مثبتی بر میزان پروتئین دانه داشتند. از نظر حجم رسوب SDS نیز ترکیب‌های آللی ۱۰+۵ اثر مثبت و معنی‌دار و زیر واحدهای *۲ و ۹+۷ اثر منفی و معنی‌دار بر حجم رسوب داشتند. نتایج تحقیق حاضر در مورد وضعیت ژنتیکی ارقام گندم نان ایرانی و استرالیایی نشان داد که زیر واحدهای گلوتنین، به ویژه زیر واحدهای ۱۰+۵ در مکان ژنی *Glu*-D1، می‌توانند به عنوان نشانگرهای مرتبط با کیفیت آرد و پخت نان جهت بهبود کیفیت گندم‌های سازگار در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه، ترکیب آللی گلوتنین، گندم نان، SDS-PAGE

* نویسنده مسئول: a.izanloo@birjand.ac.ir

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) در دنیا بالاترین سطح زیر کشت و تولید را به خود اختصاص داده است، که بطور متوسط ۲۰ درصد کل کالری و ۲۲ درصد کل پروتئین در رژیم غذایی انسان را فراهم می‌کند (FAO, 2013). نان به عنوان مهمترین فرآورده گندم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. عوامل متعددی در تعیین کیفیت آرد گندم های نان دخیل هستند، که پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم دانه از عمده‌ترین عوامل مؤثر بر کیفیت محصول این گیاه استراتژیک محسوب می‌گردند (Bahraie, 2003). در واقع پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مسئول خواص منحصر به فرد چسبندگی و قابلیت ارتجاع در خمیر آرد گندم هستند. پروتئین‌های گلوتن شامل گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها است و نزدیک به هشت درصد پروتئین دانه گندم را این دو جزء تشکیل می‌دهند (Payne, 1987). گلوتنین‌ها یک گروه ناهمگون از پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه هستند که چند زنجیره‌ای بوده که زیرواحدهای آن‌ها به وسیله‌ی پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی و درون مولکولی به یکدیگر متصل هستند. این زیرواحدها در هنگام مطالعه با الکتروفورز ژل اکریل‌آمید با سدیم دودسیل‌سولفات (SDS)، با شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی از یکدیگر جدا می‌شوند و در ژل پلی اکریل آمید در دو گروه، زیر واحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا (High Molecular Weight-Glutenin subunits: HMW-Gs) و زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین (Low Molecular Weight-Glutenin subunits: LMW-Gs) تقسیم می‌شوند. این پروتئین‌ها نقش اصلی را در کیفیت آرد و پخت نان دارند (Branlard *et al.*, 2001)

امروزه به خوبی مشخص شده است که تنوع در میزان و نوع پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مسئول تفاوت‌های موجود در ارقام مختلف گندم‌های تجارتی از نظر کیفیت و خواص غذایی آرد است، بنابراین در برنامه‌های به‌زراعی و به‌نژادی کیفیت گندم، از پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به عنوان یک شاخص کلیدی و ارزشمند استفاده می‌شود (Ahmad *et al.*, 1998). ارتباط زیرواحدهای گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا و خواص فنی آرد و پخت نان در گندم‌های هگزاپلوئید توسط محققین زیادی گزارش شده است (Payne *et al.*, 1987; Nieto-Taladriz *et al.*, 1994; Najafian *et al.*, 1997; Nakamura, 2000). با ایجاد روش ارزیابی کیفیت بر اساس تعیین امتیاز هر یک از آلل‌ها در مکان‌های ژنی، امکان تعیین ارزش کیفی هر رقم بر اساس ترکیبات آللی این زیر واحدها فراهم شده است. این روش امتیاز دهی بر اساس تاثیر هر آلل بر ترکیب آللی در لاین‌های ایزوژن ابداع شده است و به دلیل اثر افزایشی آلل‌ها می‌توان مجموع امتیازات را برای ارزیابی امتیاز کیفیت یک ژنوتیپ محاسبه و مورد استفاده قرار دارد (Payne, 1987).

ژنوتیپ‌هایی که دارای آلل‌های ۵ و ۱۰ در مکان ژنی *Glu*-D1 یا به عبارت دیگر ۵+۱۰ هستند، نسبت به ژنوتیپ‌های با آلل‌های ۱۲+۲ در این مکان ژنی ارزش نانوایی بیشتری دارند (Jones and Cadle, 1997). محققین نشان دادند که امتیاز مکان *Glu*-1 سهم مهمی (۵۰ تا ۷۰ درصد) از تغییرات در کیفیت نانوایی گندم‌های بسیاری از کشورها را توجیه می‌کند. در کانادا کلیهٔ لاین‌های به‌نژادی بر اساس حضور جفت زیرواحد ۵+۱۰ انتخاب شده و فراوانی برابر ۹۵ درصد در مقابل پنج درصد زیرواحد ۱۲+۲ در آن‌ها گزارش شده است (Bushuk, 1998). همچنین ۸۵ درصد گندم‌های آمریکا شامل زیرواحدهای ۵+۱۰ هستند. در اوکراین، روسیه و قزاقستان وضعیت متفاوت بوده و فراوانی زیرواحدهای ۵+۱۰ بین ۴۶ تا ۵۵ درصد و ۱۲+۲ بین ۴۱ تا ۵۴ درصد گزارش شده است. در کشورهای اخیر حدود ۵۰ تا ۵۳ درصد ارقامی که به‌عنوان کیفیت خوب شناخته شده‌اند، جفت زیرواحد ۱۲+۲ نشان داده‌اند. در گزارشی از یک بررسی روی ۴۰۰ گندم نان از کشورهای مختلف، زیرواحد نول در کانادا، آمریکا و پاکستان وجود نداشت و در کشورهای استرالیا، اوکراین، روسیه و قزاقستان فراوانی ۹ درصد یا کمتر را نشان داد (Rabinovich, 1998). در ایران نیز اثر زیرواحدهای ۱۰+۵ بر کیفیت نان‌های لواش مورد بررسی و تایید قرار گرفته است (Reshmeh-Karim *et al.*, 2001). در این راستا، تحقیق حاضر انجام شد که هدف آن، بررسی تنوع آللی زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا به‌عنوان یک شاخص مهم ژنتیکی امتیاز کیفیت نان در ۲۲ رقم گندم نان سازگار به شرایط آب و هوایی خشک و نیمه خشک استان خراسان جنوبی به همراه سه رقم گندم استرالیایی اصلاح شده برای مناطق دیم و کیفیت نانوایی بالا (Izanloo *et al.*, 2008)، گروه‌بندی و مقایسه آن‌ها از نظر کیفیت بر اساس تنوع موجود در آلل‌های سه مکان ژنی (*Glu*-A1، *Glu*-B1، *Glu*-D1) و سپس تعیین ارتباط بین زیرواحدهای مختلف در مکان‌های ژنی سه گانه با صفات کیفی مرتبط با دانه و آرد بود.

مواد و روش‌ها

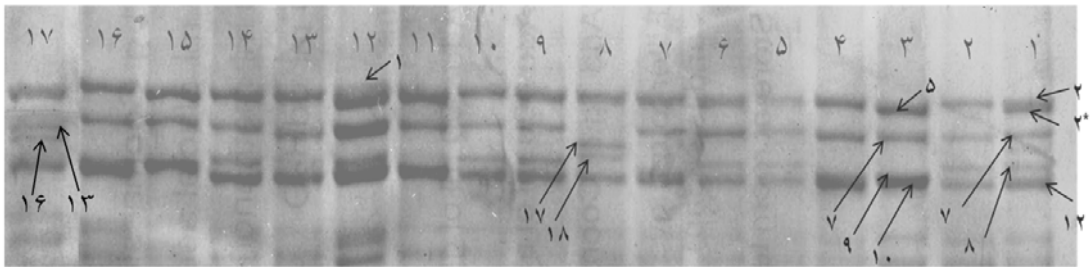
در این آزمایش مواد گیاهی شامل ۲۲ رقم گندم ایرانی (روشن، زرین، هیرمند، بزوستایا، هامون، آذر ۲، شاه پسند، کویر، قدس، کرج۳، نیک نژاد، اکبری، شیراز، اترک، الموت، شعله، رسول، پیشتاز، استار، وری ناک، الوند و داراب ۲) و سه رقم گندم استرالیایی (کوکری، اسکلیبر و گلادیوس) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار تحت شرایط نرمال آبیاری در سال ۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند (عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۴۸۰ متر از سطح دریا) کشت شدند. صفات درصد پروتئین، عدد زلنی، حجم نان، درصد رطوبت، سختی دانه و درصد جدب آب توسط دستگاه NIR PERTEN 8600 اندازه‌گیری شدند. حجم رسوب SDS طبق روش کارتر و همکاران (۱۹۹۹) با استفاده از یک گرم آرد تعیین شد (Carter *et al.*, 1999).

استخراج گزینشی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا بر اساس روش تاتهام و همکاران (۲۰۰۸) با تغییرات اندکی بصورت مرحله ای انجام گرفت (Tatham *et al.*, 2008). بررسی الکتروفورزی SDS-PAGE طبق روش لایملی (Laemmli, 1970) در سال ۱۳۹۱ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه بیرجند انجام شد.

برای تشخیص گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا از رقم استرالیایی کوکری که دارای زیر واحدهای با وزن مولکولی زیاد شناخته شده بود (۲*، ۷+۸ و ۵+۱۰) استفاده شد. نام‌گذاری زیرواحدهای گلوتنین و آلل‌های کنترل کننده آن‌ها در هر مکان ژنی *Glu-A1* در ژنوم‌های مختلف و امتیاز ژنوتیپی کیفیت هر رقم طبق روش پین و لاورانس (Payne and Lawrence, 1983) در کلیه ارقام انجام شد. تجزیه خوشه ای برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا از طریق الگوریتم UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc V. 2.02 (Rohlf, 1998) انجام شد. تجزیه واریانس و رگرسیون گام‌به‌گام به‌منظور یافتن الل‌های موثر بر صفات کیفی شامل درصد پروتئین، ارتفاع رسوب SDS، حجم رسوب زلنی و سختی دانه با استفاده از نرم‌افزار GenStat V. 12.10 (Payne *et al.*, 2002) انجام گرفت. در تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام صفات به‌عنوان متغیر وابسته و زیرواحدها به‌عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند.

نتایج و بحث

تنوع آلل‌های رمز کننده زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا مربوط به مکان‌های ژنی سه گانه در ارقام گندم‌های نان مورد بررسی، به‌خوبی قابل تشخیص بود (شکل ۱). در ۲۵ رقم گندم نان مورد بررسی ۱۴ آلل و ۹ ترکیب آللی در مکان‌های ژنی *Glu*-A1 (آلل‌های یک، نول و۲*)، *Glu*-B1 (۷+۸، ۷+۹، ۱۷+۱۸ و ۱۳+۱۶) و *Glu*-D1 (۵+۱۰ و ۲+۱۲) مشاهده شد.



شکل۱- الگوی الکتروفورزی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا با روش SDS-PAGE روی ژل ۱۰ درصد در بعضی از ارقام گندم نان. شماره‌های ۱ تا ۱۷ به تریتب ارقام قدس، اکبری، بزوستایا، الموت، آذر۲ ، پیشتاز، داراب۲ ، هیرمند، شیراز، الوند، استار، کوکری، شعله، روشن، اترک، هامون و شاهپسند هستند. رقم کوکری دارای آلل‌های شناخته شده ۱، ۷+۸ و ۵+۱۰ به عنوان استاندارد جهت تشخیص آلل‌های ارقام دیگر در نظر گرفته شد.

Figure 1. The pattern of high molecular weight glutenin subunits using SDS-PAGE on 10% polyacrylamide gel in some wheat cultivars. Number 1 to 17 are Qods, Akbari, Bezostaja, Alamot, Azar2, Pishtaz, Darab2, Hirmand, Shiraz, Alvand, Star, Kukri, Shole, Roshan, Atrak, Hamon and Shahpasand, respectively. The cultivar Kukri with known alleles of 1, 7+8 and 5+10 was considered as a standard to recognize alleles of other cultivars.

جدول ۱- نوع، تعداد و فراوانی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در ارقام گندم

Table 1. Type, number and frequency of high molecular weight glutenin subunits in wheat cultivars

مکان ژنی Loci	نام آلل Allele name	زیر واحد Subunit	تعداد Number	فراوانی (٪) Frequency (%)
Glu-A1	a	1	3	12
	b	2*	13	52
	c	Null	9	36
Glu-B1	b	7+8	10	40
	c	7+9	8	32
	f	13+16	2	8
	i	17+18	5	20
Glu-D1	a	2+12	15	60
	d	5+10	10	40

جدول۲- زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در مکانهای ژنی *Glu*-A1، *Glu*-B1 و *Glu*-D1 همراه با امتیازهای آللی و ژنومی ارقام

Table 2. High molecular weight glutenin subunits at *Glu*-A1, *Glu*-B1 and *Glu*-D1 loci along with the allelic scores and genomic scores of the studied cultivars

شماره رقم Cultivar No.	Cultivar name	نام رقم	مکان ژنی (Loci) *Glu*-A1	*Glu*-B1	*Glu*-D1	امتیاز آللی Allelic score	امتیاز ژنوتیپی Genotypic score
1	Akbari	اکبری	Null	7+8	2+12	1+3+2	6
2	Alamot	الموت	Null	7+9	2+12	1+2+2	5
3	Alvand	الوند	Null	7+8	2+12	1+3+2	6
4	Star	استار	Null	7+9	5+10	1+2+4	7
5	Atrak	اترک	2*	7+9	5+10	3+2+4	9
6	Azar2	آذر۲	Null	7+8	2+12	1+3+2	6
7	Bezostaja	بزوستایا	2*	7+9	5+10	3+2+4	9
8	Darab2	داراب۲	2*	7+9	2+12	3+2+2	7
9	Excalibure	اسکلیبر	2*	17+18	5+10	3+3+4	10
10	Qouds	قدس	2*	7+8	2+12	3+3+2	8
11	Gladious	گلادیوس	1	7+8	5+10	3+3+4	10
12	Hamon	هامون	Null	7+9	2+12	1+2+2	5
13	Hirmand	هیرمند	2*	17+18	2+12	3+3+2	8
14	Karaj	کرج	Null	13+16	2+12	1+3+2	6
15	Kavir	کویر	1	17+18	2+12	3+3+2	8
16	Kukri	کوکری	1	7+8	5+10	3+3+4	10
17	Niknejad	نیک‌نژاد	2*	7+9	5+10	3+2+4	9
18	Pishtaz	پیشتاز	2*	7+8	2+12	3+3+2	8
19	Rasol	رسول	2*	7+9	5+10	3+2+4	9
20	Roshan	روشن	Null	7+8	2+12	1+3+2	6
21	Shahpasand	شاهپسند	Null	13+16	2+12	1+3+2	6
22	Shiraz	شیراز	2*	7+8	2+12	3+3+2	8
23	Shole	شعله	2*	7+8	2+12	3+3+2	8
24	Verinak	وری‌ناک	2*	17+18	5+10	3+3+4	10
25	Zarin	زرین	2*	17+18	5+10	3+3+4	10

در مکان ژنی *Glu*-A1، فراوانی زیرواحد نول، زیرواحد *۲ و زیرواحد ۱ به ترتیب ۳۶، ۵۲ و ۱۲ درصد بود (جدول ۱). امتیاز کیفیت زیرواحد نول، ۱ و امتیاز کیفیت زیرواحدهای یک و *۲، برابر با ۳ است (جدول ۲).

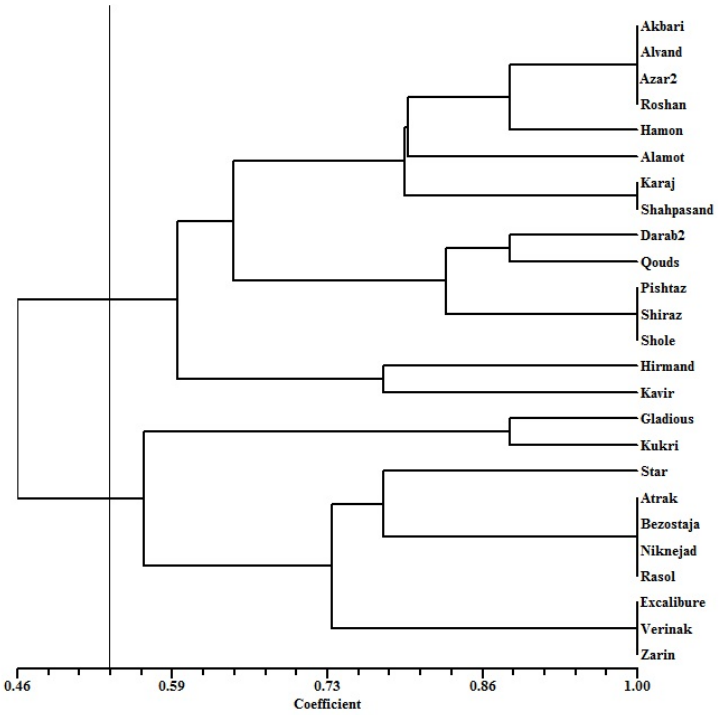
بالا بودن زیر واحد *۲ در اکثر ارقام رایج کشت (۱۳ رقم) در ایران که ارزش کیفیت بالاتری دارد، یک ویژگی مثبت و برتری از لحاظ کیفیت نانوایی نسبت به بقیه ارقام مورد کشت ایرانی می‌باشد ولی در هر سه رقم استرالیایی دارای زیرواحد *۲ و یک بودند که بیشترین امتیاز کیفیت را در این مکان ژنی دارند و نسبت به نول برتری دارند. در ارتباط با این موضوع بهتر است در برنامه‌های به‌زراعی کشور از ارقامی جهت کشت و تلاقی استفاده شود که آلل *۲ و یک را داشته باشند. در یک مطالعه روی گندم‌های نان آذربایجان غربی و شرقی گزارش شد که ۷۵ درصد ارقام گندم آذربایجان شرقی دارای آلل نول و ۲۵ درصد دارای آلل *۲ بودند، در حالی‌که در ارقام گندم آذربایجان غربی فراوانی آلل نول ۱۵ درصد و آلل *۲، ۸۵ درصد بود، با این وجود در هیچ یک از توده‌ها آلل یک گزارش نشد (Shahbazi, 2000). برتری آلل *۲ و یک نسبت به آلل نول در تحقیقات زیادی گزارش شده است (Najafian *et al.*, 2008; Haghparast *et al.*, 2009; Nikooseresht *et al.*, 2009). همچنین با بررسی گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا در ارقام اصلاح شده گندم، فراوانی آلل‌های *۲، نول و ۱ به‌ترتیب ۴۳، ۳۹ و ۱۸ درصد گزارش شده است (Najafian *et al.*, 1997).

در مکان ژنی *Glu*-B1، ۴ ترکیب آللی یافت شد. زیرواحدهای ۸+۷، ۹+۷ و ۱۸+۱۷ به ترتیب با ۴۰، ۳۲ و ۲۰ درصد دارای بیشترین فراوانی و جفت زیر واحد ۱۶+۱۳ با ۸ درصد کم‌ترین فراوانی را داشتند (جدول ۱). ارقام استرالیایی اسکلیبر، گلادیوس و کوکری در این مکان ژنی به‌ترتیب دارای آلل‌های ۱۸+۱۷، ۸+۷ و ۸+۷ بودندکه هر آلل دارای امتیاز ۳ می‌باشند (جدول ۲). ۱۲ رقم رایج کشت در ایران نیز در این مکان دارای آلل‌های با امتیاز ۳ بودند. ارقام کرج و شاهپسند دارای آلل‌های ۱۶+۱۳ بودند که امتیاز ۳ را دارا می‌باشند. ترکیب آللی ۹+۷ با امتیاز کیفیت ۲ در ۳۲ درصد از ارقام مورد مطالعه مشاهده شد. جفت آلل‌های ۸+۷ و ۱۸+۱۷ نسبت به سایر آلل‌ها در این مکان ژنی از لحاظ کیفیت برتری دارند و این برتری در گزارش‌های قبلی نیز مورد تأکید قرار گرفته است و بهتر است در انتخاب ارقام جهت کشت و تولید آرد با کیفیت نانوایی بالا در یک برنامه به‌زراعی، ژنوتیپ‌هایی در نظر گرفته شوند که این آلل‌ها را در ژنوم B خود داشته باشند (Najafian *et al.*, 2008; Haghparast *et al.*, 2009; Nikooseresht *et al.*, 2009). در یک مطالعه روی کیفیت گندم‌های نان ایران در مکان ژنی *Glu*-B1، هشت ترکیب از زیر واحدهای ۸+۷، ۹+۷، ۱۸+۱۷، ۷، ۱۶+۱۳، ۲۰، ۸+۶ و ۱۵+۱۴ به ترتیب با فراوانی‌های معادل ۴۸/۶۵، ۱۹/۳۸، ۱۶/۵۶، ۶/۳۹، ۴/۰۷، ۲/۳۲، ۱/۵۳ و ۱/۱ درصد گزارش گردید (Bahraie, 2003).

در مکان ژنی *Glu*-D1، ۴۰ درصد ارقام دارای جفت زیرواحد ۱۰+۵ و ۶۰ درصد بقیه دارای زیرواحد ۱۲+۲ بودند (جدول ۱). بحرایی (Bahraie, 2003) در مکان ژنی *Glu*-D1 سه جفت زیرواحد ۱۰+۵، ۱۲+۲ و ۱۲+***۲ را به ترتیب با فراوانی‌های ۶۰/۰۶، ۳۶/۴۵ و ۳/۴۹ درصد گزارش نمود. بر اساس نتایج (جدول ۲) امتیاز کیفیت جفت آلل ۱۰+۵، ۴ و امتیاز کیفیت جفت آلل ۱۲+۲ برابر ۲ می‌باشد. ارقام استرالیایی همگی دارای جفت آلل ۱۰+۵ بودند. در مورد برتری جفت آلل ۱۰+۵ از لحاظ کیفیت آرد نسبت به جفت آلل ۱۲+۲ گزارش‌های زیادی وجود دارد (Bushuk, 1998; Reshmeh-Karim *et al.*, 2001; Najafian *et al.*, 2008).

در سال‌های اخیر، زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا به‌عنوان شاخص کیفّیت در برنامه‌های به‌نژادی مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین یکی از دلایل مهم فراوانی بالاتر زیر واحدهای نول و ۱۲+۲ در ارقام ایرانی در مقایسه با سایر کشورها، عدم کاربرد این پروتئین‌ها به‌عنوان معیار انتخاب در برنامه‌های به‌زراعی و به‌نژادی کیفیت گندم می‌باشد. همان‌طور که ملاحظه شد، فراوانی آلل ۱۲+۲ که با کیفیت ضعیف‌تر همبستگی دارد، نسبت به آلل بسیار مفید ۱۰+۵ بیشتر است و با در نظر گرفتن نقش مثبت و بسیار مهم این ترکیب آللی (۱۰+۵) در کیفیت نانوایی باید در تلاقی والدین برای اصلاح ارقام با کیفیت دقت بیشتری کرد و حتی الامکان ژنوتیپ‌هایی را که دارای ترکیب ۱۰+۵ هستند برگزید و یا در برنامه‌های اصلاح از طریق نشانگر این ترکیب آللی را گزینش کرد.

نتایج تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر روش UPGMA ژنوتیپ‌ها را به دو گروه عمده تفکیک نمود (شکل ۲). پانزده ژنوتیپ در گروه اول قرار گرفتند که شامل ارقام اکبری، الوند، آذر۲، روشن، کرج، شاهپسند (با امتیاز کیفیت ۶ از ۱۰)، الموت و هامون (با امتیاز کیفیت ۵)، ارقام داراب۲ (با امتیاز کیفیت ۷)، قدس، پیشتاز، شیراز، شعله، هیرمند و کویر (با امتیاز کیفیت ۸) بودند. ارقام این گروه در مکان ژنی *Glu*-D1 دارای زیرواحد ۱۲+۲ بودند و در مجموع امتیاز ژنوتیپی همه این ارقام متوسط تا ضعیف بود و از این‌رو، ارقام ضعیف تا متوسط از لحاظ کیفیت نانوایی در این گروه قرار گرفتند.



شکل۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا در ارقام گندم مورد مطالعه

Figure 2. Dendrogram resulted from the cluster analysis based on high molecular weight glutenin subunits in the studied wheat cultivars

در گروه دوم ۱۰ رقم قرار گرفتند، که پنج رقم از آنها شامل کوکری، گلادیوس، اسکلیبر (ارقام استرالیایی)، وری‌ناک و زرین دارای امتیاز کیفی ۱۰ از ۱۰ بودند. ارقام اترک، بزوستایا، نیک‌نژاد، و رسول امتیاز کیفیت ۹ از ۱۰ را داشتند. تنها رقم استار با امتیاز کیفی ۷ از ۱۰ در این گروه قرار گرفت که دلیل پایین بودن امتیاز آن وجود آلل نول در مکان ژنی *Glu*-A1 بود. همه ارقام این گروه در مکان ژنی *Glu*-D1 دارای زیرواحد ۱۰+۵ بودند. از آن‌جا که ترکیب زیرواحد ۱۰+۵ در مکان ژنی *Glu*-D1 دارای ارزش نانوایی بیشتری می‌باشد و با توجه به نقش مثبت این زیر واحد ها روی کیفیت آرد (Jones and Cadle, 1997)، ارقام این گروه از لحاظ کیفیت نانوایی نسبت به دیگر ارقام برتری دارند. ارقام استرالیایی، وری‌ناک و زرین در مکان های ژنی *Glu*-A1 و *Glu*-B1 نیز دارای زیرواحدهای با امتیاز کیفیت بالا شامل ۱، *۲، ۸+۷ و۱۸+۱۷ بودند. وجود زیرواحد *۲ از مکان ژنی *Glu*-A1 و زیرواحد ۸+۷ از مکان ژنی *Glu*-B1، باعث بهبود کیفیت نانوایی نسبت به سایر زیرواحدها می‌شود (Nikooseresht *et al.*, 2009). نتایج تجزیه خوشه‌ای، گروه‌بندی مطلوبی از ارقام مورد مطالعه در ارتباط با زیرواحدهای گلوتنین سنگین مرتبط با ویژگی‌های نانوایی نشان داد. با توجه به نتایج این تحقیق، استفاده از ارقام گروه دوم در برنامه های اصلاحی به‌دلیل داشتن زیرواحدهای مناسب (۱، *۲، ۸+۷/۱۸+۱۷ و ۱۰+۵) در مکان ژنی *Glu*-1 و تأثیر مثبت این زیرواحدها بر کیفیت آرد و نان، پتانسیل خوبی را برای افزایش کیفیت نانوایی در تلفیق با دیگر ویژگی‌های مطلوب ارقام رایج مورد کشت در ایران فراهم خواهد آورد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس یک طرفه برای یافتن زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالای تاثیرگذار بر درصد پروتئین دانه، ارتفاع رسوب SDS و حجم رسوب زلنی نشان داد که مکان‌های ژنی *Glu*-B1 و *Glu*-D1 اثر معنی‌داری ($p<0.05$) به ترتیب روی صفت درصد پروتئین و ارتفاع رسوب SDS داشتند، ولی برای صفت رسوب زلنی و سختی دانه اختلاف معنی‌داری در هیچ یک از مکان‌های ژنی پیدا نشد (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین‌ها برای درصد پروتئین دانه (جدول ۴) نشان داد که در مکان ژنی *Glu*-B1، زیرواحدهای ۱۶+۱۳ اثر معنی‌داری بر افزایش میزان پروتئین دانه (0.396 ± 13.61٪) داشتند، در حالی که اختلاف معنی‌داری بین زیرواحدهای ۸+۷، ۹+۷ و۱۸+۱۷ از نظر میانگین درصد پروتئین وجود نداشت. هر چند بر

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات کیفی مورد مطالعه برای مکان‌های ژنی *Glu*-A1، *Glu*-B1 و *Glu*-D1

Table 3. Analysis of variance of the studied quality traits for *Glu*-A1, *Glu*-B1 and *Glu*-D1 loci

مکان ژنی Loci	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS) محتوی پروتئین دانه (٪) Grain protein content (%)	حجم رسوب SDS (ml) SDS sedimentation volume (ml)	رسوب زلنی Zeleny sedimentation	سختی دانه Grain hardness
Glu-A1	2	0.856	114.78	2.62	3.162
Glu-B1	3	0.907*	23.84	2.54	8.093
Glu-D1	1	0.991	409.41*	1.74	2.174
خطای آزمایش Error	18	0.261	64.78	2.04	7.499
ضریب تغییرات (٪) CV (%)	-	4.13	12.34	4.22	5.25

*: Significant at 5% probability level. *: معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪.

اساس نتایج تجزیه واریانس، مکان ژنی *Glu*-A1 اثر معنی‌درای بر میزان پروتئین نشان نداد (p=0.061)، ولی مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌داری بین زیرواحد ۱ با زیرواحد *۲ در این مکان ژنی نشان داد، به طوری که زیرواحد ۱ بالاترین میانگین درصد پروتئین (± 12.83% 0.324) را داشت (جدول ۴). در مکان ژنی *Glu*-D1، بین دو زیرواحد ۱۰+۵ و ۱۲+۲ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p = 0.067)، در عین حال متوسط درصد پروتئین در زیرواحد ۱۰+۵ بالاتر (12.67 ± 0.187) بود.

به طور کلی، آلل f یا زیرواحدهای ۱۶+۱۳ درمکان ژنی*Glu*-B1 بیشترین تأثیر را بر میانگین درصد پروتئین داشته است. زیرواحد ۱ در مکان ژنی *Glu*-A1 و آلل d یا زیرواحدهای ۱۰+۵ در مکان ژنی *Glu*-D1 نیز بر میزان پروتئین دانه تاثیر گذار بوده‌اند. بنابراین وجود آلل‌های فوق در پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گندم، باعث افزایش درصد پروتئین و بالطبع افزایش کیفیت گندم از لحاظ نانوایی می‌شوند. در مکان ژنی *Glu*-D1، زیرواحدهای ۱۰+۵ (آلل d) نسبت به زیرواحدهای ۱۲+۲، بیشترین تأثیر مثبت را روی ارتفاع رسوب SDS داشت. بنابراین، با وجود این زیرواحد، ارتفاع رسوب SDS افزایش یافته و باعث بهبود کیفیت گندم می‌شود (جدول ۴).

نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام برای صفت درصد پروتئین نشان داد که ترکیب زیرواحدهای ۱۶+۱۳ و زیر واحد یک به ترتیب از مکان‌های ژنی *Glu*-B1 و *Glu*-A1 وارد مدل شدند که در مجموع ۳۵.۳ درصد از تغییرات را توجیه نمود (جدول ۵)، که هر دو اثر مثبت و معنی‌داری بر میزان پروتئین دانه داشتند. برای صفت ارتفاع رسوب SDS سه ترکیب زیرواحدی ۱۰+۵، *۲ و ۹+۷ به ترتیب اولویت از مکان‌های ژنی *Glu*-D1، *Glu*-A1 و *Glu*-B1 وارد مدل شدند و در مجموع ۲۹/۹ درصد از تغییرات کل را توجیه نمودند که از میان آنها، ترکیب آللی ۱۰+۵ اثر مثبت بسیار معنی‌دار (p=0.007) و دو ترکیب آللی دیگر اثر منفی بر ارتفاع رسوب SDS داشتند (جدول‌های ۴ و ۵). نتایج تجزیه رگرسیون، نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها را نیز به خوبی توجیه کرد. رضایی (Rezai, 1997) نیز اثر مثبت ترکیب آللی ۱۰+۵ را بر ارتفاع رسوب SDS گزارش نمود. توحیدفر و عبدمیشانی (Tohidfar and Abd-Mishani, 1999)، نشان دادند که وجود زیرواحدهای ۲، ۸+۷ و ۱۰+۵ در گندم‌های نان باعث افزایش ارتفاع رسوب SDS و زیرواحدهای ۷، ۹+۷، ۱ و ۱۲+۲ باعث کاهش آن می‌شوند. فاتحی و همکاران (Fatehi et al., 2008) ترکیبات آللی ۱۸+۱۷، ۱۶+۱۳ و ۸+۷ از مکان ژنی *Glu*-B1 و ترکیب آللی۱۰+۵ در مکان ژنی *Glu*-D1 که دارای بالاترین میانگین ارتفاع رسوب SDS بودند را گزارش نمودند. در حالی که مکان ژنی *Glu*-A1 اثر معنی‌داری روی ارتفاع رسوب نداشت. نیکوسرشت و همکاران (Nikooseresht *et al.*, 2009) نیز اثر مثبت زیر واحد ۱ در مکان ژنی *Glu*-A1 را بر ارتفاع رسوب SDS گزارش نمودند. زیرواحدهای ۱۶+۱۳ در مکان ژنی Glu-B1 نیز دارای بالاترین و زیرواحدهای ۹+۷ دارای پایین‌ترین میانگین ارتفاع رسوب SDS بودند. آنها همچنین در مکان ژنی *Glu*-D1، زیرواحدهای ۱۰+۵ را که اثر مثبت و معنی‌داری بر ارتفاع رسوب SDS داشتند، گزارش نمودند که یافته‌های این تحقیق نیز با نتایج آنها مطابقت داشت.

به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که زیرواحد

۱ از مکان ژنی *Glu*-A1، زیر واحدهای ۱۶+۱۳ از مکان ژنی *Glu*-B1 و زیرواحدهای ۱۰+۵ از مکان ژنی *Glu*-D1 اثر مثبتی بر میزان پروتئین دانه داشتند. برای صفت حجم رسوب SDS نیز زیرواحدهای ۱۰+۵ اثر مثبت معنی‌دار و زیرواحدهای ۹+۷ و *۲ اثر منفی بر این صفت داشتند. با توجه به این نتایج و نقش مثبت زیرواحدهای فوق می‌توان در برنامه های اصلاحی جهت بهبود کیفیت دانه از رهیافت گزینش به کمک نشانگر به گزینش والدین حاوی ترکیبات آللی مفید و گزینش نتاج در نسل‌های در حال تفکیک بر اساس زیرواحدهای فوق اقدام کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای دکتر گودرز نجفیان و مهندس علی شوروزدی به خاطر کمک‌های بی‌دریغشان در راستای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

جدول ۴- میانگین صفات مورد مطالعه برای زیرواحدهای گلوتنین مختلف در مکان‌های ژنی *Glu*-A1، *Glu*-B1 و *Glu*-D1

Table 4. Mean of the studied traits for different glutenin subunits at *Glu*-A1, *Glu*-B1 and *Glu*-D1 loci

		میانگین ± خطای معیار (Mean±SE)		
مکان ژنی Loci	زیرواحد Subunit	محتوی پروتئین دانه (٪) Grain protein content (%)	حجم رسوب SDS (ml) SDS sedimentation volume (ml)	رسوب زلنی Zeleny sedimentation
Glu-A1	1	12.83 ± 0.324[a]	66.85 ± 5.11	34.84 ± 0.91
	2*	12.26 ± 0.151[b]	61.8 ± 2.38	33.71 ± 0.42
	Null	12.36 ± 0.199[ab]	69.68 ± 3.14	33.69 ± 0.56
Glu-B1	13+16	13.61 ± 0.396[a]	68.71 ± 6.24	35.92 ± 1.11
	17+18	12.17 ± 0.245[b]	67.36 ± 3.87	33.37 ± 0.69
	7+8	12.51 ± 0.174[b]	67.25 ± 2.74	34.05 ± 0.49
	7+9	12 ± 0.198[b]	60.53 ± 3.12	33.36 ± 0.55
Glu-D1	2+12	12.16 ± 0.146	61.09 ± 2.31[b]	33.57 ± 0.41
	5+10	12.67 ± 0.187	71.46 ± 2.95[a]	34.25 ± 0.52

میانگین‌های دارای حروف مشابه، اختلاف بین زیرواحدها در مکان‌های ژنی مختلف برای صفات مورد مطالعه می باشند

a and b representing the differences between subunits at different loci for the studied traits

جدول ۵- نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام به گام برای صفات محتوی پروتئین دانه و حجم رسوب SDS

Table 5. The results of stepwise regression analysis for grain protein content and SDS sedimentation volume

صفت Trait	مدل Model	ضرایب تصحیح نشده Unstandardized coefficients	آزمون t t-test	احتمال معنی‌دار p-value	ضریب تشخیص R^2
محتوی پروتئین دانه (٪) Grain protein content (%)	Constant	12.17	104.2	<0.001	0.353
	13+16	1.23	3.18	0.004	
	1	0.83	2.57	0.018	
ارتفاع رسوب SDS (ml)	Constant	67.17	28.69	<0.001	0.299
	5+10	10.23	3.01	0.007	
	2*	-6.8	-2.18	0.041	
	7+9	-6.9	-2.03	0.055	

References

Ahmad, M., Griffin, W.B. and 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: 124-126.

Bahraie, S. 2003. Bread wheat quality evaluation based on the high molecular weight glutenin subunits. **Iranian Journal of Crop Sciences** 5 (3): 204-215. (In Persian).

Branlard, G., Dardevet, M., Saccomano, R., Lagoutte, F. and Gourdon, J. 2001. Genetic diversity of seed storage proteins and bread wheat quality. In: Bedo, Z. and Lang, L. (Eds.).Wheat in a global environment. Kluwer Academc Publishers, Netherlands. pp: 157-169.

Bushuk, W. 1998. Wheat breeding for end-product use. **Euphytica** 100 (1-3): 137-145.

Carter, B. P., Morris, C. F. and Anderson, J. A. 1999. Optimizing the sds sedimentation test for end-use quality selection in a soft white and club wheat breeding program. **Cereal Chemistry** 76 (6): 907–911.

FAO. 2013. FAOSTAT. FAO statistical databases. Available at: http://faostat.fao.org.

Fatehi, F., Maleki, M., Salavati, A., Bihamta, M. R., Zali, A. and Hosseinzadeh, A. 2008. A determination of relationship between HMW glutenin subunits and bread making quality in bread wheat. **Iranian Journal of Field Crop Science** 39: 43-52. (In Persian).

Haghparast, R., Rajabi, R., Najafian, G., Rashmekarim, K. and Aghaee-Sarbarzeh, M. 2009. Evaluation of indices related to grain quality in advanced bread wheat genotypes under rainfed conditions. **Seed and Plant Improvement Journal** 25-1 (2): 315-328. (In Persian).

Izanloo, A., Condon, A. G., Langridge, P., Tester, M. and Schnurbusch, T. 2008. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two south australian bread wheat cultivars. **Journal of Experimental Botany** 59 (12): 3327-3346.

Jones, S.S. and Cadle, M. M. 1997. Effect of variation at Glu-D1 on club wheat end-use quality. **Plant Breeding** 116 (1): 69-72.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature** 227 (5259): 680-685.

Najafian, G., Abde-Mishani C. and Yazdi-Samadi, B. 1997. Effect of allelic variation for high molecular weight glutenin subunits on bread-making quality of breeding lines of wheat. **Iranian Journal of Agricultural Sciences** 28 (3): 1-13. (In Persian).

Najafian, G., Bahraie, S., Baghaie, N., Mortezagholi, M. and Babaie-Goli, E. 2008. Bread making quality attributes of iranian commericial cultivars of wheat and their high molecular weight glutenin subunits composition. In: Proceeding of 11th International Wheat Genetics Symposium. August 24-29, Brisbane, QLD, Australia. pp: 527-528.

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.

Nieto-Taladriz, M. T., Perretant, M. R. and Rousset, M. 1994. Effect of gliadins and HMW and LMW subunits of glutenin on dough properties in the F6 recombinant inbred lines from a bread wheat cross. **Theoretical and Applied Genetics** 88 (1): 81-88.

Nikooseresht, R., Najafian, G., Mirfakhrai, R. G. and Dehghani, H. 2009. Evaluation of bread making quality of wheat using sds sedimentation volume and high molecular weight glutenin subunits. **Seed and Plant Improvement Journal** 25-1 (3): 373-383. (In Persian).

Payne, P. I. 1987. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on breadmaking quality. **Annual Review of Plant Physiology** 38: 141-153.

Payne, P. I. and Lawrence, G. J. 1983. Catalogue of alleles for the complex loci, *glu-a1* and *glu-d1*, which code for HMW subunits of glutenin hexaploid wheat. **Cereal Research Communications** 11: 29-35.

Payne, P. I., Nigtingale, M. A., Krattiger, A. F. and Holt, L. M. 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of british-grown wheat varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 40: 51-65.

Payne, R. W., Baird, D. B., Cherry, M., Gilmour, A. R., Harding, S. A., Kane, A. F., Lane, P. W., Murray, D. A., Soutar, D. M., Thompson, R., Todd, A. D., Tunnicliffe Wilson, G., Webster,

R. and Welham, S. J. 2002. Genstat. VSN International, Wilkinson House, Jordan Hill Road, Oxford, UK.

Rabinovich, S. V. 1998. Composition of high molecular weight glutenin subunits connected with good quality in spring wheats and its distribution in different countries of world. In: Slinkard, A. E. (Ed.). Proceeding of 9th International Wheat Genetics Symposium. pp: 254-256.

Reshmeh-Karim, K., Saeidi, A., Hamedi, M. and Irani, P. 2001. Effect of glutenin subunits for some commercial bread wheat cultivars on the quality of lavash bread. **Seed and Plant** 17 (3): 262-274. (In Persian).

Rezai, A. 1997. Use of recombinant lines of wheat for study of association between high molecular weight glutenin subunits and flour quality characteristics. **JWSS-Isfahan University of Technology** 1: 19-29. (In Persian).

Rohlf, F. J. 1998. NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Software. Department of Ecology and Evolution, State University of New York.

Shahbazi, H. 2000. Evaluation of bread characteristics of azarbijan native wheats using protein electerophoresis and its association with quantitative and agronomic triats. Ms. C. Dissertation. University of Tabriz, Tabriz, Iran. (In Persian).

Tatham, A. S., Gilbert, S. M., Fido, R. J. and Shewry, P. R. 2008. Extraction, separation, and purification of wheat gluten proteins and related proteins of barley, rye, and oats. In: Marsh, M. N. (Ed.). Methods in molecular medicine. Humana Press Inc., Totowa, NJ.

Tohidfar, G. and Abd-Mishani, S. 1999. Association of high molecular weight glutenin subunits of wheat with some important quality traits using multivariate analysis. **Iranian Journal of Agricultural Sciences** 30: 709-717. (In Persian).

Associations between high molecular weight glutenin subunits with bread quality traits of some bread wheat cultivars

Sadegh Ghoreishi[1], Ali Izanloo[2*], Soheil Parsa[2] and Mohammad Ghader Ghaderi[2]

1 and 2. M.Sc. Student and Assist. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran

(Received: January 20, 2014- Accepted: September 6, 2014)

Abstract

To evaluate the variations of high molecular weight glutenin subunits (HMW-Gs) at the *Glu*-1 loci and the relationship between different allelic combinations with grain quality traits, 25 bread wheat varieties were assessed using SDS-PAGE method in the University of Birjand, in 2013. In this study, a total of 14 alleles and nine allelic combinations were detected. At the *Glu*-A1 locus, frequency of subunit 2*, Null allele and subunit 1 were 52, 36 and 12 percent, respectively. At the *Glu*-B1 locus, the most frequent allelic combination was 7+8 with 40% and 13+16 allelic combination was the lowest with eight percent. At the *Glu*-D1 locus, 40% of genotypes showed 5+10 allelic combination and the other 60% showed 2+12 allelic combination. Overall score average based on the quality of bread wheat glutenin subunits was 7.76 out of 10, which is relatively good in quality. In this study, Kukri, Gladious and Excalibur (Australian bread wheat cultivars), Verinak and Zarrin with the overall score of 10 were the best in quality based on allelic combinations at the HMW-Gs loci. Alamoot and Hamoon showed the lowest quality score of five were considered as poor quality wheat cultivars. Based on the results of analysis of variance and stepwise regression analysis, subunit 1, 13+16 and 5+10 subunits had a positive effect on grain protein content. For SDS sedimentation volume, 5+10 subunits had the positive effect, while 2* allele and 7+9 subunits had the negative effect on this trait. Given the important role of HMW-Gs as genetic markers for bread making and flour quality, the results of this study is a genetic estimation of the Iranian and Australian bread wheat cultivars for their quality characteristics.

Keywords: Bread wheat, Glutenin allelic composition, SDS-PAGE, Seed storage proteins

*Corresponding author: a.izanloo@birjand.ac.ir