دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی

تحقیقات غلات

دوره هفتم/ شماره دوم/ تابستان ۱۳۹۶ (۱۹۴-۱۸۵)

رابطه الگوی نواری HMW-GS با صفات کیفیت نانوایی در لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام گندم زاگرس و نوراستار

نسرین اکبری[۱]، سید سیامک علوی‌کیا[۲*]، مجید نوروزی[۲] و مصطفی ولیزاده[۳]

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۱۷

چکیده

امروزه بسیاری از برنامه‌های اصلاحی گندم بر افزایش محتوای پروتئین دانه به‌منظوره بهبود کیفیت نانوایی متمرکز است. در این پژوهش ابتدا تنوع ژنتیکی موجود در سه مکان ژنی *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* در ۲۸ لاین اینبرد نوترکیب گندم حاصل از تلاقی ارقام زاگرس و نورستار و ۱۰ رقم تجاری با روش SDS-PAGE بررسی شد. سپس ارتباط بین این نوارها و برخی صفات مرتبط با کیفیت نانوایی مانند میزان گلوتن ماکروپلیمری، درصد رطوبت بذر، حجم رسوب زلنی، وزن دانه، حجم رسوب SDS، سختی دانه، وزن هکتولیتر، درصد جذب آب، شاخص گلوتن، درصد پروتئین، حجم نان و گلوتن مرطوب با استفاده از رگرسیون چندگانه خطی مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی، تنوع قابل ملاحظه‌ای در بین و درون دو گروه ارقام تجاری و لاین‌های اینبرد نوترکیب مشاهده شد. طبق نتایج تجزیه رگرسیون، آلل‌های مکان ژنی $Glu\text{-}A_1$، به‌ویژه آلل ۱، بیشترین ارتباط را با صفات کیفیت نانوایی داشتند، به‌طوری‌که این آلل با صفات درصد پروتئین، حجم رسوب زلنی، میزان رسوب SDS، شاخص گلوتن و میزان گلوتن ماکروپلیمری رابطه مثبت و با صفت میزان گلوتن مرطوب رابطه منفی نشان داد. آلل *۲ از این مکان ژنی با صفات وزن دانه و حجم رسوب زلنی رابطه مثبت و با درصد رطوبت دانه ارتباط منفی نشان داد. آلل نول از همان مکان ژنی نیز با درصد پروتئین ارتباط منفی و با وزن دانه ارتباط مثبت داشت. آلل ۱۲+۲ از مکان ژنی $Glu\text{-}D_1$ با حجم نان رابطه منفی و با میزان گلوتن ماکروپلیمری رابطه مثبت نشان داد. نتایج این تحقیق نشان داد که مهم‌ترین آلل مؤثر بر صفات کیفیت نانوایی، آلل ۱ از مکان ژنی *Glu-A1* بود که با گلوتن مرطوب رابطه منفی و معنی‌دار و با درصد پروتئین، حجم رسوب زلنی، شاخص گلوتن و حجم رسوب SDS رابطه مثبت و معنی‌داری داشت. اهمیت کاربردی این نتایج، امکان انجام گزینش سریع و مناسب ژنوتیپ‌ها در نسل‌های اولیه برنامه‌های به‌نژادی است.

واژه‌های کلیدی: پروتئین دانه، حجم رسوب زلنی، گلوتنین، SDS-PAGE

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲- دانشیار، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳- استاد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول: ss.alavikia@tabrizu.ac.ir

مقدمه

تحقیقات مربوط به کیفیت نانوایی در اصلاح گندم اهمیت به‌سزایی دارند (Nikoseresht *et al.*, 2009)، اما برای ارزیابی کیفیت نانوایی گندم در نسل‌های اولیه یک برنامه اصلاحی، به‌طور معمول مقدار کافی دانه در دسترس نمی‌باشد (Payne *et al.*, 1979, 1981, 1987). بنابراین استفاده از روش‌های آزمایشگاهی مانند اندازه‌گیری حجم رسوب زلنی، ارتفاع رسوب SDS و یا تجزیه و تحلیل بر اساس زیر واحدهای پروتئین برای انتخاب لاین‌های برتر و امیدوار کننده پیشنهاد شده است (Payne *et al.*, 1979).

پومیرانز (Pomeranz, 1988) بیان داشت که کیفیت آرد گندم یک مفهوم کلی است و مترادف با قدرت آن است که این نیز به کمیت و کیفیت پروتئین گندم بستگی دارد که به‌طور عمده توسط ترکیب و مقدار پروتئین‌های تشکیل دهنده گلوتن تعیین می‌شود (Butow *et al.*, 2003). گلیادین و گلوتنین به‌عنوان اجزای اصلی گلوتن، نقش مهمی در خواص خمیر و کیفیت نانوایی دارند (Brnalard, 1989). با استفاده از SDS-PAGE و تفکیک زیر واحدهای HMW-GS که دارای تأثیر قوی بر ویژگی‌های رئولوژیکی و کیفیت نانوایی گندم هستند، تلاش‌هایی در جهت انتخاب ارقام با کیفیت بالا شده است (Shewry and Tatham, 1990؛ Payne *et al.*, 1981). همچنین با وجود اینکه HMW-GSها که تنها ۱۰ درصد از پروتئین ذخیره‌ای دانه را شامل می‌شوند (Peltonen *et al.*, 1993)، به‌تنهایی ۴۷ تا ۶۰ درصد از تغییرات کیفیت نان را توجیه می‌کنند، بررسی‌های بسیاری در جهت توضیح تغییرات کیفیت نانوایی بر اساس وجود و عدم وجود این زیرواحدهای خاص انجام شده است (Payne *et al.*, 1979, 1981, 1987). HMW-GS به‌وسیله سه مکان ژنی *Glu-1* که شامل *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* هستند و در بازوی بلند از گروه همیولوگ یک واقع شده‌اند، رمزگذاری می‌شوند (Payne and Lawerence, 1983). مکان ژنی *Glu-A1* شامل سه آلل ۱، ۲ و نول می‌باشد که آلل‌های ۱ و۲ دارای اثر مثبت برابر و بیش از آلل نول روی کیفیت نانوایی هستند (Singh *et al.*, 1990). مکان ژنی *Glu-B1* دارای ۱۱ آلل است. در این بین برخی آلل‌ها منفرد و برخی به‌صورت دو زیرواحد پروئینی رمز می‌شوند. از آلل‌های منفرد می‌توان به آلل‌های ۷، ۲۰، ۲۱ و ۲۲ و از آلل‌های با دو زیرواحد پروتئینی می‌توان به ۸+۷، ۶+۸، ۹+۷، ۱۶+۱۳، ۱۹+۱۳، ۱۵+۱۴، ۱۸+۱۷ اشاره کرد (Sontag *et al.*, 1986; Svensson, 1989; Uhlen, 1990). به گزارش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1990)، حالتی که در آن هر دو زیر واحد کد می‌شود، مانند ۱۸+۱۷، ۱۶+۱۳ و ۸+۷ از نظر کیفیت نانوایی در مقایسه با ۷ و ۲۰ که یک زیر واحد هستند و نیز نسبت به ۸+۶ برتری دارند. پاین و لاورنس (Payne and Lawerence, 1983) برای مکان ژنی *Glu-DI* شش آلل گزارش کردند. بنابراین، وقوع مشترک آلل متفاوت از این سه مکان ژنی در تجمع نمرات و نیز در تعیین کیفیت نانوایی اهمیت دارد (Payne *et al.*, 1987).

اهمیت HMW-GS با توجه به آثار ترکیبی آن‌ها در کشش خمیر گندم، در تعیین کیفیت فرآوری دانه گندم قابل توجه است (Payne *et al.*, 1981). هُروت و همکاران (Horvat *et al.*, 2006) با اشاره به تأثیر HMW-GS بر پروتئین دانه (r =۰/۸۲)، حجم نان (r =۰/۶۵)، درجه نرمی (r =- /۹۰) و توسعه خمیر (r =۰/۷۰)، بیان داشتند که ترکیب HMW-GS را می‌توان برای پیش‌بینی کیفیت نان در نسل‌های گندم به کار برد که این عوامل توجیه کننده اهمیت مطالعه ارتباط بین این پروتئین‌ها و صفات کیفیت نانوایی است.

جزء پلیمری با وزن ملکولی بالای پروتئین گلوتن گندم به نام گلوتنین ماکروپلیمر (GMP)، به‌عنوان یک پارامتر کیفی مهم در تعیین کیفیت پخت نان به کار می‌رود. کمیت گلوتنین ماکروپلیمر و هم‌نوع زیر واحدهای متشکله آن می‌توانند با کیفیت نانوایی در ارتباط باشند (Weegels *et al.*, 1987). احتمالاً زیرواحدهای گلوتنین یک مبنای ژنتیکی برای کنترل گلوتنین ماکروپلیمر (GMP) یا اندازه آن دارند که علاوه بر عوامل ژنتیکی تحت تأثیر محیط نیز قرار می‌گیرد (Weegels *et al.*, 1996). مهرآذر و همکاران (Mehrazar *et al.*, 2013) در بررسی صفات مرتبط با کیفیت دانه در ۳۲ رقم تجاری گندم به مراه زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا با روش SDS-PAGE به وجود رابطه مثبت و معنی‌دار بین آلل‌های *۲، ۱۸+۱۷ و ۱۰+ ۵ با حجم رسوب SDS اشاره کردند. هدف از این مطالعه بررسی تنوع و رابطه الگوی نوار HMW-GS با صفات مرتبط با کیفیت نانوایی در ارقام تجاری و لاین‌های اینبرد نوترکیب بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این پژوهش، ۲۸ لاین اینبرد نوترکیب گندم حاصل از تلاقی ارقام زاگرس و نورستار که در قطب اصلاح

مولکولی غلات دانشگاه تبریز تولید شده بودند، استفاده شد. ارقام تجاری شامل سرداری، سبلان، نوید، امید، هیرمند، روشن، زرین، گاسکوژن، بزوستایا و اینیا نیز از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال بذر تهیه شدند و مورد استفاده قرار گرفتند.

جهت استخراج پروتئین از روش لاورنس و شفر (Lawrence, and Shepherd, 1980) استفاده شد. جهت مطالعه الگوی بخش HMW-GS پروتئین ذخیره‌ای دانه از سیستم بافری ناپیوسته به‌روش لایملی (Laemmli, 1970) استفاده شد که ژل متراکم کننده با غلظت ۵ درصد پلی‌آکریل‌آمید و ژل تفکیک کننده برای تفکیک زیرواحدهای پروتئین با غلظت ۱۰ درصد پلی‌آکریل‌آمید تهیه شدند. با توجه به وجود و عدم وجود نوارهای پروتئین، ترکیب زیرواحدهای گلوتنین HMW کدگذاری شده در مکان ژنی *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* مشخص و امتیاز کیفیت نانوایی برای ارقام تجاری مورد مطالعه و لاین‌های نوترکیب به‌روش پاین و لاورنس (Payne and Lawerence, 1983) که در آن حداکثر امتیاز یک ژنوتیپ از نظر کیفیت نانوایی ۱۰ می‌باشد، تعیین شد. برای افزایش دقت در شناسایی و امتیازدهی نوارهای گلوتنین-HMW GS از ۵ شاهد شامل رقم قدس دارای نوارهای (۱، ۱۳+۱۶، ۲+۱۲)، هیرمند (۱، ۱۷+۱۸، ۲+۱۲)، نوید (نول، ۲۱، ۲+۱۰)، بزوستایا (*۲، ۷+۹، ۵+۱۰) و مارکوئیس (۱، ۷+۹، ۵+۱۰) استفاده شد.

برای تعیین مقادیر گلوتن ماکروپلیمری از روش گراولند (Graveland, 1980) با اعمال اصلاحاتی به شرح ذیل استفاده شد. ۰/۰۷ گرم نمونه آرد به اضافه ۱/۴ میلی‌لیتر محلول SDS ۱/۵ درصد در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری پلاستیکی ریخته و به شدت ورتکس شد. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۵۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سلسیوس تحت شتاب ۴۰۰۰۰g (دور ۲۱۱۵۰ در دقیقه) سانتریفوژ شدند. بعد از سانتریفوژ سوسپانسیون آرد، محصول به‌دست آمده به‌صورت سه لایه به‌ترتیب از بالا به پایین شامل مایع فوقانی حاوی پروتئین‌های محلول در SDS، ژل GMP (پروتئین‌های گلوتنین ماکروپلی‌مری با وزن ملکلولی بالا) و ذرات نشاسته بود.

از نرم‌افزار STATISTICA جهت بررسی ارتباط بین نوارهای پروتئینی و صفات کیفیت نانوایی از طریق رگرسیون چندگانه خطی به روش ریج استفاده شد. برای بررسی تنوع بین لاین‌ها و تجزیه خوشه‌ای به ترتیب از نرم افزارهای GenAlEx6.4 و MEGA5 استفاده و جهت مقایسه الگوی نواری پروتئین ذخیره‌ای دانه بین لاین‌های اینبرد نوترکیب و ارقام تجاری از روش آماری AMOVA استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس مولکولی

تجزیه واریانس مولکولی الگوی نوارهای پروتئینی HMW-GS (جدول ۱) مقادیر واریانس بین گروهی را ۰/۲۳۴ و درون گروهی را ۱/۳۶۳ برآورد کرد که بیانگر واریانس درون گروهی بالاتر نسبت به بین گروهی است. این امر حاکی از وجود تنوع بیشتر در درون گروه‌های لاین‌های اینبرد نوترکیب و ارقام تجاری مورد مطالعه از نظر الگوی پروتئینی HMW-GS است. از آنجا که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شامل دو گروه ارقام و لاین‌های اینبرد هستند، بنابراین وجود تنوع بالای درون گروهی مورد انتظار بود. با توجه به مقدار ۰/۱۴۶ برای آماره PhiPT اختلاف بین ارقام تجاری مورد مطالعه و لاین‌های اینبرد نوترکیب از نظر الگوی پروتئینی HMW-GS معنی‌دار بود. همچنین با توجه به سهم ۸۵ درصدی واریانس درون گروهی در مقایسه با سهم ۱۵ درصدی و معنی‌داری واریانس بین گروهی می‌توان عنوان داشت که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در درون گروه‌های لاین‌های اینبرد نوترکیب و ارقام تجاری از لحاظ HMW-GS وجود دارد. با توجه به جدول ۲ تنوع درون گروهی ارقام تجاری مورد مطالعه از نظر الگوی پروتئینی HMW-GS حدود دو برابر تنوع درون گروهی لاین‌ها بود که نشان‌دهنده تنوع بیشتر آلل‌های رمزگردان مکان‌های ژنی *Glu-1* در بین ارقام تجاری مورد مطالعه نسبت به لاین‌های نوترکیب است.

جدول ۱- تجزیه واریانس مولکولی الگوی نواری HMW–GS برای دو گروه لاین‌های اینبرد نوترکیب و ارقام تجاری مورد مطالعه

Table 1. Analysis of molecular variance based on HMW–GS banding patterns for two groups (RILs vs cultivars)

منابع تغییرات Source of variations	میانگین مربعات Mean of squares	برآورد واریانس Variance estimation	درصد واریانس Percentage of variance
بین گروهی Among groups	5.290	0.234	15
درون گروهی Within groups	1.363	1.363	85
کل Total	57.100	1.597	

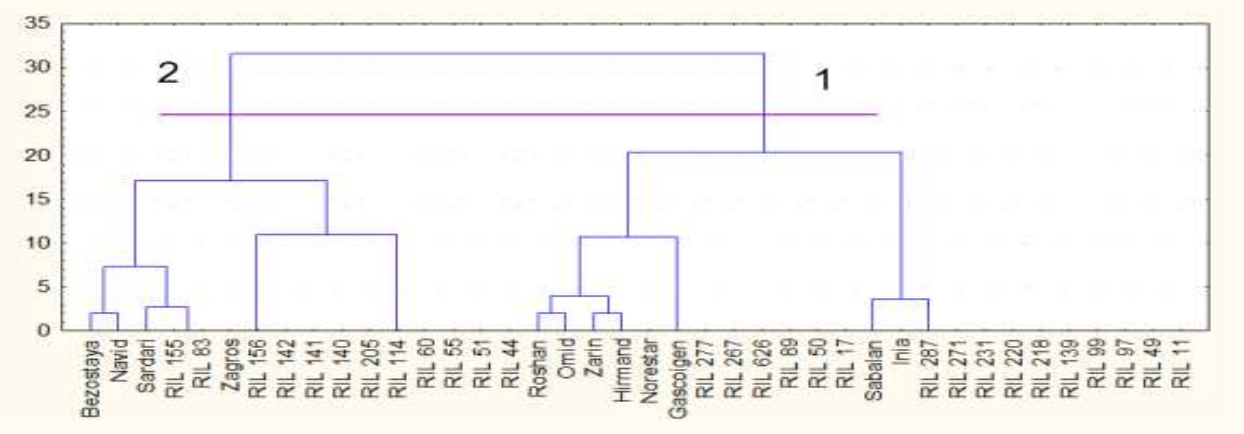
- PhiPT= 0.146 (prob<0.01)

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای با استفاده از داده‌های مربوط به الگوی نواری HMW-GS و بر اساس فاصله ژنتیکی نی، ژنوتیپ‌ها را به دو گروه متمایز تفکیک کرد. در گروه یک ارقام اینیا، گاسکوژن، نورستار، زرین، هیرمند، روشن، امید و سبلان به‌همراه لاین‌های اینبرد ۲۸۷، ۲۷۱، ۲۳۱، ۲۲۰، ۲۱۸، ۱۳۹، ۹۹، ۹۷، ۴۹، ۱۱، ۱۷، ۵۰، ۸۹، ۲۶۲، ۲۶۷ و ۲۷۷ قرار گرفتند. کلیه ژنوتیپ‌های این گروه دارای نوار ۱ از مکان ژنی *Glu-A1* بودند. ارقام زاگرس، بزوستایا، نوید و سرداری به‌همراه لاین‌های اینبرد ۴۴، ۵۱، ۵۵، ۶۰، ۱۱۴، ۲۰۵، ۱۵۶، ۱۴۲، ۱۴۱، ۱۴۰، ۸۴ و ۱۵۵ نیز در گروه دو واقع شدند. الگوی نواری HMW-GS قادر به تفکیک ارقام تجاری مورد مطالعه از لاین‌های اینبرد نوترکیب (شکل ۱) نشد. فاصله ژنتیکی بین این دو گروه ژنوتیپ بسیار کم (۰/۰۷) بود.

تجزیه رگرسیون

طبق نتایج رگرسیون ریج، صفات سختی دانه، وزن هکتولیتر و درصد جذب آب با هیچ‌یک از HMW-GSها ارتباطی نشان ندادند، در حالی‌که میزان جذب آب خمیر تابعی از میزان گلوتن در واحد حجم خمیر است و با افزایش میزان پروتئین دانه محتوای گلوتن آرد و به تبع آن میزان جذب آب نیز افزایش می‌یابد (Najafian, 2001). شاخص گلوتن با آلل ۱ از مکان ژنی *Glu-A1* ارتباط معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). اثر مثبت و معنی‌دار آلل ۹+۷ از مکان *Glu-B1* بر شاخص گلوتن گزارش شده است (Dvoracek *et al.*, 2013). ژوهانسون و سونسون (Johansson and Svensson, 1995) نیز ضمن اشاره به تأثیر آلل‌های *۲۱ و ۱۸+۱۷ بر محتوای گلوتن، ارزش بالای این آلل‌ها را نسبت به آلل‌های ۱ و ۹+۷ بر محتوای گلوتن در تلاقی گندم‌های W3879 و Kadett گزارش کردند. همچنین آنها به تأثیر مثبت آلل‌های ۱۵+۱۴ و ۱۲+۲ بر محتوای گلوتن در مقایسه با آلل‌های ۹+۷ و ۱۰+۵ در تلاقی بین گندم‌های W31169 و Nemares نیز اشاره کردند.



شکل ۱- نمودار خوشه‌ای بر اساس الگوی نواری HMW–GS

Figure 1. Dendrogram of cluster analysis based on HMW–GS banding pattern

رابطه مثبت بین آلل ۱ از مکان *Glu-A1* و آلل ۱۲+۲ از مکان ژنی *Glu-D1* با GMP نیز مشاهده شد که در این بین آلل ۱۲+۲ ارتباط مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ نشان داد. در بررسی ارتباط بین زیر واحدهای سنگین گلوتنین و استحکام گلوتن، جایگاه ژنی *Glu-D1* مهم‌ترین مکان ژنی شناخته شده است که در آن آلل ۱۰+۵ دارای ارزش بالا (Rodriguez and Carrilo, 1994; Strohm *et al.*,1996) و مؤثر بر کیفیت نانوایی است. مهرآذر و همکاران (Mehrazar *et al.*, 2013) بین آلل ۱۰+۵ و آزمون ارتفاع رسوب SDS همبستگی مثبت و معنی‌داری گزارش کردند. گوپتا (Gupta, 1993) به تأثیر مثبت این زیر واحد روی افزایش مقاومت خمیر اشاره کرد. در تحقیقی دیگر این آلل به‌عنوان عامل تأثیرگذار بر ویژگی کیفی و کیفیت نهایی آرد گزارش شد (Jones and Cadle, 1997). با توجه به اینکه GMP بیانگر مقدار گلوتن مرطوب با وزن مولکولی بالا در آرد است، معنی‌دار شدن رابطه این صفت با آلل ۱۲+۲ تا حدودی می‌تواند بیانگر نقش و اهمیت این آلل در تعیین مقدار گلوتن ماکروپلیمری باشد. در بین لاین‌های مورد مطالعه، دو لاین ۸۹ و ۲۷۱ با ترکیب آلل‌های ۱، ۸+۷ و ۱۲+۲ بیشترین مقدار GMP را دارا بودند. ولی دو لاین اینبرد نوترکیب ۲۳۱ و ۲۶۷ با ترکیب ۱، ۸+۷ و ۱۰+۵ از نظر شاخص گلوتن، حجم رسوب SDS و گلوتن مرطوب که مهم‌ترین صفات مرتبط با کیفیت نانوایی گندم هستند، جزء لاین‌های برتر بودند که این یافته‌ها با نتایج ویگلز و همکاران (Weegls *et al.*, 1987) مطابقت دارد و علاوه بر اهمیت مقدار HMW-GS بیانگر اهمیت کیفیت و نوع زیرواحد HMW-GS در تعیین کیفیت نانوایی گندم است. ذکر این مطلب ضروری است که اگر بنا به دلایل مختلف، میزان پروتئین کمتر از ۹/۲ درصد باشد، تنوع آللی در هیچ مکان ژنی حتی *Glu–D1* در تعیین ارزش نانوایی مؤثر نخواهد بود (Kolster *et al.*, 1991).

جدول ۲- مجموع و میانگین مربعات درون گروهی در لاین‌های نوترکیب و ارقام تجاری گندم مورد مطالعه در این تحقیق از نظر الگوی نواری پروتئین‌های ذخیره‌ای HMW-GS

Table 2. Sum of square and mean square of within group for wheat commercial varieties and recombinant inbred lines studied in this research based on HMW-GS banding patterns

	فراوانی	مجموع مربعات درون گروهی Within group sum of square	میانگین مربعات درون گروهی Within group mean square
لاین‌های اینبرد نوترکیب Recombinant inbred lines	28	29.143	1.0793
ارقام تجاری Commercial cultivars	12	22.667	2.0606
کل Total	40	57.100	

حجم نان با آلل ۱۲+۲ از مکان ژنی *Glu-D1* رابطه منفی معنی‌داری در سطح احتمال ۱۰ درصد نشان داد. مشاهده رابطه منفی بین آلل ۱۲+۲ از مکان ژنی *Glu-D1* با حجم نان در این تحقیق نیز اهمیت ترکیب و نوع زیر واحدهای HMW-GS را در تعیین کیفیت نانوایی تأیید می‌کند. بنابراین، دارا بودن میزان پروتئین بالا به‌تنهایی نمی‌تواند تعیین کننده کیفیت نانوایی باشد، بلکه علاوه بر بالا بودن مقدار پروتئین، وجود نسبت بالا از زیرواحدهای ویژه‌ای از HMW-GS و نسبت مناسبی از گلیادین و گلوتنین نیز در ایجاد ساختار مطلوب در خمیر و تولید نان مناسب و با کیفیت بالا لازم است. ژوهانسون و سونسون (Johansson. and Svensson, 1995) بالاترین حجم نان را در ترکیب آلل *۲۱ و ۱۸+۱۷ گزارش کردند. وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2007) رابطه مثبت و معنی‌داری بین حجم نان با مقدار HMW-GS و نسبت HMW-GS به LMW-GS گزارش کردند.

جدول ۳- اثر نوارهای HMW-GS بر ویژگی‌های مرتبط با کیفیت نانوایی گندم با استفاده از تجزیه رگرسیون ریج

Table 3. Effect of HMW-GS bands on bread making quality characteristics using ridge regression analysis

متغیر وابسته Dependent variable	نوار تبیین‌کننده Predictor band	ضریب رگرسیون جزئی استاندارد شده Standardized partial regression coefficient	ضریب تبیین Coefficient of determination (R^2)
وزن هزار دانه 1000 grain weight	2* null	2.9599** 5.86775**	0.29125
حجم نان Bread volume	2+12	-12.6212*	0.10549
درصد گلوتن مرطوب Wet gluten percentage	1	-1.05992*	0.11987
درصد پروتئین Protein percentage	1 null	0.16043* -0.3333**	0.30081
درصد رطوبت دانه Grain moisture percentage	2*	-0.12211*	0.10116
حجم رسوب زلنی Zeleny sedimentation volume	1 2*	1.2735*** 0.8949**	0.29896
حجم رسوب SDS SDS sedimentation volume	1	2.308611*	0.11885
شاخص گلوتن Gluten index	1	11.872*	0.28102
گلوتن ماکروپلیمری Macropolymer gluten (GMP)	1 2+12	0.1327ns 0.17062**	0.18629

ns، *، ** و ***: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۱۰ ٪، ۵ ٪ و ۱ ٪.

ns, *, ** and ***: Not-significant and significant at 10%, 5% and 1% probability levels, respectively.

در این بررسی حجم رسوب SDS با آلل ۱ از مکان ژنی *Glu-A1* ارتباط مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱۰ درصد نشان داد. این ارتباط مثبت و معنی‌دار در مطالعات سایر محققان نیز گزارش شده است (Rodriguez and Carrilo, 1994; Strohm *et al.*,1996; Nikoseresht *et al.*, 2009). در مقابل، فاتحی و همکاران (Fatehi *et al.*, 2007) گزارش کردند که مکان‌های ژنی *Glu-B1* و *Glu-D1* اثر معنی‌داری بر ارتفاع رسوب SDS دارند، در حالی‌که مکان *Glu-A1* اثر قابل توجهی را نشان نمی‌دهد. به‌طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که آلل *۲ از *Glu-A1*، ۱۰+۵ از *Glu-D1* و ۱۸+۱۷ از *Glu-B1* حداکثر اثر را بر حجم رسوب بر اساس تجزیه و تحلیل رگرسیون نشان دادند. نتایج یافته‌های نیکوسرشت و همکاران (Nikoseresht *et al.*, 2009) نشان داد که آلل ۱ از جایگاه ژنی *Glu-A1*، آلل ۱۶+۱۳ از جایگاه ژنی *Glu-B1* و آلل ۱۰+۵ از جایگاه ژنی *Glu-D1* دارای بالاترین میانگین ارتفاع رسوب SDS در جایگاه‌های ژنی سه‌گانه بودند.

در این تحقیق، گلوتن مرطوب با آلل ۱ از مکان ژنی *Glu-A1* رابطه منفی و معنی‌داری در سطح احتمال ۱۰ درصد نشان داد. درصد پروتئین ارتباط مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱۰ درصد با آلل ۱ از مکان ژنی *Glu-A1* و رابطه منفی و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با آلل نول نشان داد. این نتایج تا حدودی بیانگر بالا بودن درصد پروتئین با حضور آلل ۱ است. ژاکویچ و همکاران (Jurkovic *et al.*, 2000) رابطه مثبت و معنی‌داری بین آلل ۹+۷ و گلوتن مرطوب گزارش کردند. بیشترین درصد پروتئین مربوط به دو لاین ۲۳۱ و ۲۶۷ با ترکیب ۱، ۸+۷ و ۱۰+۵ و کمترین مقدار آن مربوط به لاین‌های ۸۳ و ۱۵۵ با ترکیب نول، ۸+۷ و ۱۲+۲ و لاین نوترکیب ۴۴ با ترکیب

*۲، ۸+۷ و ۱۲+۲ بود. بنابراین، آلل ۱ از مکان *Glu-A1* در مقایسه با دو آلل دیگر این مکان ژنی احتمالاً تأثیر بیشتری در تعیین درصد پروتئین دارد. همچنین با توجه به ترکیب آللی لاین‌های دارای بیشترین و کمترین درصد پروتئین، مشاهده شد که لاین‌های دارای آلل ۱۲+۲ در مکان ژنی *Glu-D1* که با مقدار گلوتن ماکروپلیمری نیز ارتباط مثبت و معنی‌داری نشان داد، از کمترین درصد پروتئین برخوردار هستند. این یافته‌ها با یافته‌های کلستر و همکاران (Kolster *et al.*, 1991) که به وجود آثار اپیستازی بین مکان‌های ژنی رمزکننده HMW-GS گزارش کردند و بیان داشتند که آلل‌های ۱ و *۲ فقط در حضور آلل ۱۰+۵ از مکان ژنی *Glu-D1* نسبت به آلل نول برتر بوده‌اند، مطابقت داشت. حجم رسوب زلنی رابطه معنی‌داری با هر دو آلل ۱ و *۲ نشان داد. همچنین وزن دانه با آلل *۲ و نول از مکان ژنی *Glu-A1* ارتباط مثبت و معنی‌دار و درصد رطوبت دانه با آلل *۲ از مکان ژنی *Glu-A1* ارتباط منفی و معنی‌داری در سطح احتمال ۱۰ درصد نشان داد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که نوارهای HMW-GS دارای ارتباط معنی‌داری با ویژگی‌های مرتبط با کیفیت نانوایی گندم از قبیل وزن دانه، حجم نان، گلوتن مرطوب، درصد پروتئین، درصد رطوبت دانه، حجم رسوب زلنی، شاخص گلوتن، حجم رسوب SDS و گلوتن ماکروپلیمری بودند. مهم‌ترین آلل مرتبط و مؤثر بر صفات کیفیت نانوایی، آلل ۱ از مکان ژنی *Glu-A1* بود که بر اساس نتایج حاصل با گلوتن مرطوب رابطه منفی و معنی‌دار و با درصد پروتئین، حجم رسوب زلنی، شاخص گلوتن و حجم رسوب SDS رابطه مثبت و معنی‌دار و همچنین با GMP ارتباط مثبت نشان داد. این آلل نزدیک‌ترین رابطه را بر اساس سطح معنی‌داری آزمون با حجم رسوب زلنی نشان داد که از جمله مهم‌ترین صفات مرتبط با کیفیت نانوایی است و از وراثت‌پذیری بالایی نیز برخوردار است. مهم‌ترین و با اهمیت‌ترین کاربرد عملی وجود ارتباط بین برخی نوارهای پروتئینی با ویژگی‌های مربوط به کیفیت نانوایی، امکان انجام گزینش سریع و مناسب ژنوتیپ‌ها در نسل‌های اولیه برنامه‌های به‌نژادی است تا نیاز به آزمایش‌های معمول چون پخت نان و تعیین حجم رسوب زلنی که نیاز به وجود آرد بیشتر و وقت بیشتری دارند، نباشد. علاوه بر آن، با این روش در مراحل اولیه برنامه‌های به‌نژادی و اصلاح بذر که مقدار بذر در دسترس کم است، امکان گزینش مطلوب فراهم می‌شود. نتایج تجزیه واریانس مولکولی داده‌ها نیز نشان داد که الگوی پروتئینی ارقام تجاری و لاین‌های اینبرد نوترکیب به شکل معنی‌داری متفاوت از یکدیگر بودند، با این‌حال تنوع کافی در داخل هر دو گروه نیز وجود داشت و بنابراین امکان گزینش ژنوتیپ‌های مناسب از داخل گروه‌ها نیز وجود دارد.

References

Brnalard, G., Autran, J. C. and Monneveux, P. 1989. High molecular weight glutenin subunit in durum wheat (*T. durum*). **Theoretical and applied Genetics** 78: 353-358.

Butow, B. J., Ma, W., Gale, K. R., Cornish, G. B., Rampling, L., Larroque, O., Morell, M. K. and Bekes, F. 2003. Molecular discrimination of Bx7 alleles demonstrates that a highly expressed high-molecular-weight glutenin allele has a major impact on wheat flour dough strength. **Theoretical and Applied Genetics** 107: 1524-1532.

Dvoracek, V., Bradova, J., Capouchova, I., Prohaskova, A. and Papouskova, L. 2013. Intra-varietal polymorphism of gliadins and glutenins within wheat varieties grown in the Czech Republic and its impact on grain quality. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding** 49: 140-148.

Fatehi, F., Maleki, M., Salavati, A., Bihamta, M. R., Zali, A. A. and Hoseinzadeh, A. H. 2007. Determining relationship between HMW-GS and bread making quality in bread wheat. **Iranian Journal of Field Crop Sciences** 39: 52-43. (In Persian with English Abstract).

Graveland, A. 1980. Extraction of wheat proteins with sodium dodecyl sulphate. **Annual Technology Agriculture** 29:113-123.

Gupta, R. B., Khan, K. and Macritche, F. 1993. Biochemical basic of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in the quantity and size distribution of polymeric protein. **Journal of Cereal Chemistry** 18: 23-41.

Horvat, D., Drezner, G., Jurković, Z., Šimić, G., Magdić, D. and Dvojković, K. 2006. The importance of high molecular weight glutenin subunits for wheat quality evaluation. **Journal Poljoprivreda** 12: 53-57.

Johansson, E. and Svensson, G. 1995. Proteins contribution of the high molecular weight glutenin subunit 21* to bread making quality of Swedish wheats. **Journal of Cereal Chemistry** 72: 287-290.

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

Jurkovic, Z., Sudar, R., Drezner, G. and Horvat, D. 2000. The HMW glutenin subunit composition of OS wheat cultivars and their relationship with bread-making quality. **Cereal Research Communication** 28: 271-277.

Kolster, P., Vaneuwijk, F. A. and Vangelder, W. M. G. 1991. Additive and epistatic effects of allelic variation of the HMW glutenin subunit loci in determining the bread-making quality of breeding lines of wheat**. Euphytica** 55: 277-285.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of resistance to bacteriophage T4. **Annual Reviews of Phytopathology** 227: 680-685.

Lawrence, G. J. and Shepherd, K. W. 1980. Variation in glutenin protein subunits of wheat. **Australian Journal of Biological Sciences** 33: 221-233.

Mehrazar, E., Mohammadi, M., Najafi, G. and Darbandi, A. 2013. Relationship between high molecular weight Glutenin subunits and grain quality traits in bread wheat cultivars**. Seed and Plant Improvement Journal** 4: 823-838. (In Persian with English Abstract).

Najafian, G. 2001. Investigation of the effects of kernel protein content on expression of quality attributes in four cultivars of bread wheat as related to their HMW glutenin subunits. **Journal of Agricultural Science** 32: 501-513. (In Persian with English Abstract).

Nikoseresht, R., Najafian, G., Mir-Fakhraie, R. Gh. and Dehghani, H. 2009. Evaluation of bread making quality of bread wheat cultivars and lines using SDS sedimentation volume and high molecular weight glutenin subunits. **Seed and Plant Improvement Journal** 3: 373-383. (In Persian with English Abstract).

Payne, P. I., Corfield, K. G. and Blackman, J. A. 1979. Identification of a high-molecular-weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. **Theoretical and Applied Genetics** 55: 153-159.

Payne, P. I., Holt, L. M. and Law, C. N. 1981. Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin. Part 1: Allelic variation in subunits amongst varieties of wheat (*Triticum aestivum*). **Theoretical and Applied Genetics** 60: 229-236.

Payne, P. l. and Lawerence, G. J. 1983. Catalogue of alleles for the comple gene loci *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* which code for HMW subunits of gluten in hexaploid wheat. **Cereal Research Communication** 11: 29-35.

Payne, P. I. 1987. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. **Annul Reviews of Plant Physiology** 38: 141-153.

Payne, P. I., Nightingale, M. A., Krattiger, A. F. and Holt, L. M. 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the breed-making quality of Birtish-grow wheat varieties. **Journal of Sciences Food and Agriculture** 40: 51-65.

Peltonen, J., Salopelto, J. and Hannu, R. 1993. The optimal combination of HMW glutenin subunits coded at gene loci *Glu-A1* and *Glu-B1* for bread-making quality in Scandinavian wheats. **Journal of Heredirаs** 118: 71-78.

Pomeranz, Y. 1988. Wheat chemistry and technology. American Association of Cereal Chemists. 562 p.

Rodriguez, Q. M. and Carrilo, J. 1994. Relationship between high molecular weight glutenin subunits and gluten strength in Spanish landraces of *Triticum aestivum* ssp. vulgare. **Investigacion-Agraria, Production-Y-Proteccion-Vegetales** 9: 327-339. (In Spanish).

Shewry, P. R. and Tatham, A. S. 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds: Structure and evolution. **Biochemical Journal** 267: 1-12.

Singh, N. K., Donovan, G. R., Macritchie, F. 1990. Use of sonication and size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins. II. Relative quantity of gluten in as a measure of bread-making quality. **Journal of Cereal Chemistry** 67: 161-170.

Sontag, T., Salovaara, H. and Payne, P. I. 1986. The high molecular-weight glutenin subunit composition of wheat varieties bred in Finland. **Journal of Agricultural Science** 58: 151-156.

Strohm, T. S., Payne, P. I. and Salovaara-Ulla, H. 1996. Effect of allelic variation of glutenin subunits and gliadins on baking quality in the progeny of tow biotypes of bread wheat cv. Ulla. **Cereal Science** 24: 115-124.

Svensson, G. 1989. Breeding for improved baking quality. **Sveriges Utsadesforenings Tidskrift** 99: 117-120.

Uhlen, A. K. 1990. The composition of high molecular weight glutenin subunits in Norwegian wheats and their relation to bread-making quality. **Norwegian Journal of Agricultural Science** 4: 1-17.

Wang, Y. G., Khan, K., Hareland, G. and Nygard, G. 2007. Distribution of protein composition in bread wheat flour mill streams and relationship to bread making quality. **Journal of Cereal Chemistry** 84: 271-275.

Weegels, P. T., Hamer, R. J. and Speip, L. 1987. Gene location for flour quality in winter wheat using reciprocal chromosome substitution. **Crop Science** 27: 667-681.

Weegels, P. L., Hamer, R. J. and Schofield, J. D. 1996. Functional properties of wheat glutenin. **Journal of Cereal Sciences** 23: 1-18.

University of Guilan
Faculty of Agricultural
Sciences

Cereal Research
Vol. 7, No. 2, Summer 2017 (185-194)

Relationship between HMW-GS bands and bread making quality traits in recombinant inbred lines derived from a cross between Zagros and Norstar wheat varieties

Nasrin Akbari[1], Seyed Siamak Alavi Kia[2*], Majid Norozi[2] and Mostafa Valizadeh[3]

Received: December 27, 2015 Accepted: April 5, 2016

Abstract

Nowadays, many breeding programs of wheat focus on improving bread making quality. Therefore, at first, existent genetic variation in three loci *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* was studied among 28 recombinant inbred lines (RILs) derived from a cross between Zagros and Norstar wheat varieties and 10 commercial wheat varieties via SDS-PAGE. Then, relationships between the bands and bread making quality traits such as macro-polymeric gluten content, grain moisture percentage, Zeleni sedimentation volume, grain weight, SDS sedimentation volume, grain hardiness, hectoliter weight, water absorbance percentage, gluten index, protein percentage, bread volume and wet gluten were studied via multiple linear regression. According to analysis of molecular variance (AMOVA), a considerable variation was obtained within two groups, RILs and commercial varieties, as same as between them. Based on regression analysis, alleles from the *Glu-A1* locus especially allele 1 had the most relationship with bread making quality traits, so that this allele was positively related to protein percentage, Zeleni sedimentation volume, SDS sedimentation volume, gluten index, macro-polymeric gluten content and negatively with wet gluten. Allele 2* from the mentioned locus had positive relationship with grain weight, Zeleni sedimentation volume and negative with grain moisture percentage. Null allele from the *Glu-A1* locus was negatively related to protein percentage and positively to grain weight. Allele 2+12 from the *Glu-D1* locus indicated positive relationship with macro-polymeric gluten content and negative with bread volume. The results of this research showed that most important allele affecting the bread making quality traits was allele 1 from the *Glu-A1* locus which had a negative significant relationship with the wet gluten and positive with the protein percentage, Zeleni sedimentation volume, gluten index and SDS sedimentation volume. The practical significance of these results is the ability to quickly and appropriately select the genotypes in the early generations of breeding programs.

Keywords: Grain protein, Glutenin, SDS-PAG, Zeleni sedimentation volume

1. M. Sc. Student, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Assoc. Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
* Corresponding author: ss.alavikia@tabrizu.ac.ir