مجله علمی-پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات
جلد ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶، صفحات ۶۱-۵۱

ISSN NO: 2008-8485

بررسی ارتباط بین زیر واحدهای گلیادین با صفات کیفی دانه در برخی از ارقام گندم نان در شرایط تنش کم‌آبی

Investigating the relationship between gliadin sub-units and grain quality traits in wheat

معروف خلیلی[1*]، ریحانه اسدی[2] و محمدعلی ابراهیمی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۱۵

چکیده

به‌منظور بررسی ارتباط بین زیر واحدهای گلیادین با صفات کیفی دانه، تعداد ۳۰ رقم و لاین گندم نان در شرایط تنش کم‌آبی انتهای فصل کشت و بررسی شدند. تنوع پروتئین‌های گلیادین به روش الکتروفورز پلی اکریلامید گرادیان اسیدی (A-PAGE) انجام شد. تعداد باندهای مشاهده شده برای ارقام شامل ۱-۵ زیر واحد α، ۱-۵ زیر واحد ß، ۳-۸ زیر واحد γ و ۳-۶ زیر واحد ω بود. در بین زیر واحدهای α بالاترین درصد فراوانی به آلل α_1 و α_3، در بین زیر واحدهای ß گلیادین بالاترین درصد فراوانی به آلل $ß_4$، در بین زیر واحدهای γ گلیادین به زیر واحد γ_1 و γ_5 و در بین زیر واحدهای زیر واحد ω گلیادین بیشترین فراوانی به آلل‌های ω_5 و ω_6 اختصاص داشت. رابطه بین درصد پروتئین دانه با زیر واحد α_2، عدد زلنی با زیر واحدهای $ß_3$ و ß ، عدد سختی بذر با زیر واحدهای α_2 و γ_8 و وزن هزار دانه با γ_5 مثبت و معنی‌دار بود. همچنین، بین درصد جذب آب و دو زیر واحد گلیادینγ_5 و ω_5 همبستگی منفی و معنی‌دار مشاهده شد. بر اساس نتایج جدول تجزیه رگرسیون گام به گام، بین آلل‌های α_2، $ß_2$ و α_5 و درصد پروتئین دانه، آلل $ß_4$ و عدد زلنی، آلل α_2 و میزان سختی دانه، آلل γ_5 و نشاسته و ω_5 و میزان جذب آب آرد و وزن هزار دانه و آلل γ_5 زیر واحد گلیادین ارتباط معنی‌دار دیده شد. زیرواحدهای فوق، می‌توانند به‌عنوان مارکرهای بیوشیمیایی ما را جهت به دست آوردن نتاج با کیفیت نانوایی بالا یاری دهند.

کلمات کلیدی: گندم نان، تنوع ژنتیکی، زیر واحدهای گلیادین، صفات کیفی.

www.iapb.kiau.ac.ir

۱- عضو هیئت علمی رسمی و استادیار بخش کشاورزی (اصلاح نباتات)، دانشگاه پیام نور، ایران.

۲- دانش آموخته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه پیام نور واحد کرج.

۳- دانشیار بخش کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران.

*- مکاتبه کننده: makhalily@yahoo.com

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی جهان است. میزان تولید جهانی آن در سال ۲۰۱۳ برابر ۷۱۳ میلیون تن بود که از لحاظ میزان تولید بعد از ذرت و برنج در رده سوم اهمیت قرار داشت (FAO, 2015). با توجه به افزایش روزافزون جمعیت جهان، برآورد شده است که تولید گندم در جهان تا سال ۲۰۲۰ باید به‌طور متوسط سالیانه ۲ درصد افزایش یابد تا پاسخگوی نیاز غذایی جمعیت دنیا باشد (Abdel-Ghany, 2004). در میان فرآورده‌های گندم، نان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. کیفیت نان تولید شده عمده‌ترین عامل در تعیین ضایعات آن است و بخش عمده‌ای از علل ایجاد ضایعات نان به‌دلیل پایین بودن ارزش نانوایی ارقام مورد استفاده در تهیه نان می‌باشد، لذا سرمایه‌گذاری در پژوهش‌های کاربردی در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد (شهریاری، ۱۳۸۲). یکی از پارامترهای مهم جهت تعیین مرغوبیت گندم، میزان گلوتن آن است، زیرا خمیر حاصل از آردی که از لحاظ گلوتن غنی است به‌دلیل داشتن حالت کش‌دار قادر است که گازهای ناشی از تخمیر را بیشتر در خود نگهداری نماید و برای همین، خمیر بهتر آماده‌سازی شده و حجمش بیشتر می‌گردد؛ بنابراین، کیفیت پخت نان به‌طور عمده به دو فاکتور کیفیت و کمیت گلوتن خمیر نان بستگی دارد (Delcour *et al.*, 2012). گندم‌های قرمز سخت بهاره و پاییزه گلوتن بیشتری دارند و به همین دلیل، ارزش تهیه نان از آن‌ها بیشتر است. گلوتن از دو بخش گلوتنین وگلیادین تشکیل شده است. به نظر می‌رسد چون پروتئین‌های گلیادین، پروتئین‌های شبه شوک حرارتی بوده و مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های غیر زنده بالا می‌برند، در شرایط تنش، به‌دلیل افزایش شدید انباشت پروتئین‌های شاخص گلوتن با کاهش مواجه شده و در نتیجه قدرت و کیفیت خمیر کاهش یابد (Tyler *et al.*, 2014). گلیادین‌ها مخلوط پیچیده‌ای از پلی‌پپتیدهای مونومر هستند. این پروتئین‌ها در pH اسیدی بر اساس تحرک الکتروفورزی خود به گلیادین‌های γ، β، α و ω تقسیم می‌شوند (D'Ovidio and Masci., 2004). هر یک از این گروه‌ها خود شامل چندین جزء هستند که توسط ژن‌هایی که روی بازوی کوتاه گروه‌های ۱ و ۶ کروموزوم‌های همیولوگ (Homoeologous) A، B و D گندم نان قرار دارند کنترل می‌شوند (Hafeez Malik, 2009). گلیادین پروتئینی مونومر، دارای وزن ملکولی پائین، کشش‌پذیر، با الاستیسته پائین و قابل‌حل در اسیدها و بازها و حلال‌هائی که به‌واسطه قطبی بودن می‌توانند پیوند هیدروژنی تشکیل دهند، می‌باشد. پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه گندم به‌دلیل داشتن پلی‌مورفیسم و پایداری الگوی الکتروفورتیک در مطالعاتی به‌منظور تعیین روابط خویشاوندی، تشخیص واریته‌ها و نیز ارزیابی کیفیت مورد بهره‌برداری قرار گرفته‌اند. در این میان، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر ازجمله گلیادین‌ها به‌دلیل داشتن تنوع زیاد، آسان بودن استخراج و تجزیه الکتروفورزی به اجزاء تشکیل‌دهنده خود به‌عنوان یکی از بهترین نشانگرهای پروتئینی در شناسایی ارقام و تعیین کیفیت گندم نان به‌کار می‌روند. تفکیک پروتئین‌های گلیادین با الکتروفورز به روش Acid-PAGE با مطالعه چند شکلی‌های موجود در پروتئین گلیادین می‌تواند برای پیش‌بینی کیفیت نانوائی ژنوتیپ‌های مختلف گندم بکار رود (Ram *et al.*, 2005).

علی‌یوا و همکاران (Aliyeva *et al.*, 2012) در مطالعه الکتروفورزی تنوع زیر واحدهای گلیادین در ژنوتیپ‌های گندم کشور آذربایجان ۶۲ باند چند شکل را مشاهده نمودند. آنها ۲۴ باند پلی مورفیک و ۲۴ الگوی باندی را برای زیر واحد ω و ۱۰ باند پلی مورفیک و ۱۸ الگوی باندی را برای زیر واحد γ و ۱۳ باند و ۱۴ الگوی باندی را برای زیر واحد ß و ۱۵ باند و ۱۳ الگوی باندی را برای زیر واحد α گلیادین مشاهده کردند. اولگون و همکاران (Olgun *et al.*, 2013) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم با استفاده از صفات زراعی و کیفی و روش الکتروفورز SDS-PAGE بین ارقام از لحاظ خواص کمی و کیفی اختلاف معنی‌دار مشاهده نموده و اظهار داشتند حرکت نسبی زیر واحدهای گلیادین از ۲۳/۳۳ تا ۷۶/۴۷ تغییر بود که این حرکت نسبی برای زیر واحد ω ۲۰-۲۵، برای زیر واحد γ ۴۴-۴۹، برای زیر واحد ß ۵۴ تا ۶۲ و برای زیر واحد α ۷۰ تا ۷۶ بود. آن‌ها همچنین اظهار داشتند الکتروفورز زیر واحدهای گلیادین، به‌دلیل اینکه تحت تأثیر اثر

www.rapd.kiau.ac.ir

متقابل ژنتیک در محیط نیست، روش قابل اعتمادی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی بین ارقام است. در مطالعه این محققان بین الگوی باندی زیر واحد α و درصد پروتئین بذر همبستگی مثبت و معنی‌دار دیده شد. متاکووسکی و همکاران (Metakovsky *et al*., 1996) در بررسی ارتباط بین الل‌های گلیادین و مقدار نشاسته دانه در واریته‌های گندم ایتالیایی اظهار داشتند بین مکان‌های ژنی Gli-B1، Gli-B2 وGli-A2 همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت و مکان‌های ژنی مذکور ۵۱ درصد از تغییرات مقدار نشاسته بذر را توجیه نمودند.

روش‌های استاندارد تعیین کیفیت نهائی نان، شامل آزمایش استاندارد پخت نان و ارزیابی حجم و دیگر خصوصیات فیزیکی و شیمیائی، مستلزم صرف هزینه و وقت زیادی می‌باشد. پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر از این قابلیت برخوردار هستند تا به‌عنوان نشانگرهای قابل اعتماد در ارزیابی کیفی ارقام گندم بکار گرفته شوند. این پروتئین‌ها نقش اساسی و اصلی را در ایجاد خواص رئولوژیک، پخت نان و کیفیت آرد دارا می‌باشند. علاوه بر این، پروتئین‌های ذخیره‌ای می‌توانند به‌عنوان معیاری دقیق برای برآورد تنوع ژنتیکی و شناسایی ارقام گندم از یکدیگر مورد بهره‌برداری قرار گیرند. الکتروفورز پروتئین گلیادین با استفاده از تکنیک Acid-PAGE و مطالعه چند شکلی‌های موجود، با شناسایی ژن‌های مفید در بین ارقام مختلف گندم می‌تواند ژنوتیپ‌های مطلوب را شناسایی و به پیشرفت برنامه‌های اصلاحی و به نژادی گندم کمک نماید. بنابراین مطالعه حاضر به منظور بررسی ارتباط بین زیر واحدهای گلیادین با صفات کیفی دانه در برخی از ارقام گندم نان در شرایط تنش کم‌آبی انجام شد.

مواد و روش ها

این آزمایش در دو بخش مزرعه‌ای و آزمایشگاهی انجام گردید. در شرایط مزرعه آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه پیام نور و در شرایط آزمایشگاهی صفات در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال زراعی ۱۳۹۵ مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این مطالعه تعداد ۱۵ رقم زراعی و ۱۵ لاین امیدبخش گندم (جدول ۱) برای عملیات آزمایشگاهی استخراج پروتئین مورد استفاده قرار گرفتند. تنش خشکی در مزرعه بر اساس پتانسیل آبی خاک و از انتهای مرحله ساقه رفتن (مرحله ۴۰ شاخص زادوکس) شروع شد.

جدول ۱- شماره رقم و لاین‌های امید بخش گندم مورد بررسی

شماره	نام رقم	شماره	لاین امیدبخش
۱	سرداری	۱۶	C-84-1
۲	طبسی	۱۷	C-84-2
۳	اروم	۱۸	C-84-3
۴	زارع	۱۹	C-84-4
۵	میهن	۲۰	C-84-5
۶	زرین	۲۱	C-84-6
۷	پیشگام	۲۲	C-84-7
۸	آذر	۲۳	C-84-8
۹	بزوستایا	۲۴	C-84-9
۱۰	امید	۲۵	C-84-10
۱۱	شعله	۲۶	C-84-11
۱۲	فلات	۲۷	C-84-12
۱۳	رسول	۲۸	C-84-13
۱۴	توس	۲۹	C-84-14
۱۵	پیشتاز	۳۰	C-84-15

پس از استخراج پروتئین دانه، برای انجام الکتروفورز اسیدی پروتئین‌های گلیادین از سیستم الکتروفورزی MAXI Protein کمپانی BioRad با قابلیت چرخش آب‌خنک استفاده گردید. در این تحقیق از ژل بالای ۴ درصد و ژل پایین گرادیان با سه شیب غلظتی یعنی ۱۲، ۱۰ و ۸ درصد استفاده گردید تا بتوان الگوی خطی از پروتئین‌های گلیادین با اندازه مختلف مشاهده کرد. پس از شکل‌گیری ژل پایین برای جهت‌گیری مولکول‌های اکریل آمید و تسهیل الکتروفورز، عملیات پیش‌ران در بافر الکتروفورز با شدت جریان ۵۰ میلی‌آمپر به مدت ۱۵ دقیقه اجرا گردید. در ادامه ژل روئی هم بااحتیاط بدون ایجاد حباب در محفظه موجود ریخته شد و بلافاصله شانه مخصوص جهت ایجاد چاهک‌ها در داخل ژل روئی قرار داده شد. پس از اتمام الکتروفورز، شیشه‌ها بااحتیاط بازشده و

www.iapb.kiau.ac.ir

ژل برداشته شده به داخل ظرف حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول رنگ آمیزی کوماسی بلو انتقال داده شد. ژل به مدت ۲ ساعت در محلول رنگ‌آمیزی بر روی شیکر قرار داده شد. با تکمیل رنگ‌آمیزی، محلول کوماسی بلو تخلیه و به دنبال دو بار شستشو با آب مقطر، مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول رنگ‌بری به آن اضافه گردید. ژل در محلول رنگ‌بری مجدداً به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد تا باندهای موردنظر با وضوح مناسب مشخص شوند. درنهایت ژل رنگ‌آمیزی شده با دقت ۶۰۰dpi توسط دستگاه HP scanner اسکن شده و ژل داخل پوشه پلاستیکی مخصوص تثبیت شد. تصاویر به دست آمده برای شناسائی باندها، تعیین تنوع اللی زیر واحدهای پروتئینی و آنالیزهای آماری مورد استفاده قرار گرفت.

جهت آنالیز آماری، نتایج مرتبط با الگوی باندی پروتئین گلیادین ارقام گندم موردمطالعه وارد نرم‌افزار Excel (کد دهی به صورت صفر و یک) و فراوانی هرکدام از زیر واحدهای شناسایی شده محاسبه شد. برای محاسبه همبستگی بین نتایج تعیین ژنوتیپ گلیادین و نتایج خصوصیات کیفی بذر این ارقام (صفات رطوبت، درصد پروتئین، عدد زلنی، درصد نشاسته و سختی دانه) از آزمون همبستگی پیرسون استفاده گردید. همچنین تمام صفات تجزیه رگرسیون به روش Stepwise انجام شد. به‌طوری‌که صفات کیفی بذر به عنوان متغیر تابع و داده‌های مولکولی (۱ و ۰) به عنوان متغیر پیشگو وارد مدل رگرسیونی شدند.

نتایج و بحث

پس از بررسی و تایید برقراری فرض‌های تجزیه واریانس، یعنی نرمال بودن توزیع خطاها، یکنواختی واریانس‌های درون تیماری و اثر افزایشی بلوک با تیمار که به‌ترتیب به کمک آزمون شاپیرو- ویلک، توزیع باقی‌مانده و آزمون غیر افزایشی توکی صورت گرفت، بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌های کیفی، بین ۳۰ ژنوتیپ مورد بررسی از لحاظ صفات درصد رطوبت، درصد پروتئین، عدد زلنی، سختی دانه، میزان نشاسته، درصد جذب آب و وزن هزار دانه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت (جدول ۲). رجبی هشجین و همکاران (۱۳۹۲) نیز در ارزیابی صفات مرتبط با کیفیت پخت در ژنوتیپ‌های گندم دوروم و نان بین ژنوتیپ ها از لحاظ صفات مرتبط با خصوصیات نانوایی گندم اختلاف معنی‌داری مشاهده کردند.

الگوی تنوع پروتئین‌های گلیادین

نتایج مربوط به الکتروفورز اسیدی پروتئین‌های گلیادین استخراج شده از ارقام مختلف گندم مورد بررسی و تعداد زیر واحدهای α، β، γ و ω گلیادین ارقام گندم مورد مطالعه در جدول ۳ آورده شده است. تعداد باندهای مشاهده شده برای ارقام شامل ۱-۵ زیر واحد α، ۱-۵ زیر واحد β، ۱-۸ زیر واحد γ و ۱-۶ زیر واحد ω بود. در بین ۳۰ ژنوتیپ مورد بررسی آلل‌های α_1، α_2، α_3، α_4 و α_5 زیر واحد α گلیادین به‌ترتیب دارای درصد فراوانی‌های ۲۴، ۱۷، ۲۴، ۱۶ و ۱۹ درصد بودند. در بین اللهای زیر واحد β گلیادین آلل β_4 با متوسط ۲۴/۵۰ درصد بالاترین درصد فراوانی را در بین آلل‌های این مکان ژنی به خود اختصاص داد. آلل‌های β_3، β_2، β_5 و β_1 به ترتیب با فراوانی ۲۱/۵۶، ۱۹/۶۰، ۱۹/۶۰ و ۱۴/۷۰ درصد در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند، همچنین در بین هشت آلل‌های زیر واحد γ زیر واحدهایγ_2 وγ_3 و γ_4 به ترتیب با درصد فراوانی ۱۵/۰۶، ۱۳/۲۵ و ۱۲/۶۵ درصد بالاترین و زیر واحد γ_1 و γ_5 با فراوانی ۱۰/۸۴ درصد کمترین فراوانی آللی را در بین ۳۰ ژنوتیپ مورد بررسی به خود اختصاص دادند. در نهایت در بین آلل‌های زیر واحد ω بیشترین فراوانی به آلل‌های ω_5 و ω_6 به ترتیب با فراوانی ۱۸/۱۱ و ۱۸/۸۴ درصد اختصاص داشت آلل‌های ω_4، ω_3، ω_2 و ω_1 به ترتیب با فراوانی ۱۷/۳۹، ۱۶/۶۶، ۱۴/۴۹ و ۱۴/۴۹ درصد در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۳).

اجاقی و همکاران (Ojaghi *et al.*, 2010) بر اساس روش Acid-PAGE، ۴۸ باند و ۴۷ الگو در ۱۰۲ لاین های دابل هاپلوئید گندم مشاهده کردند آنها در ناحیه ω، ۱۸ باند و ۱۹ الگو، برای زیر واحدهای γ و β، ۱۲ و ۹ باند و ۱۹ و ۱۲ الگو و برای زیر واحد α، ۹ باند و هفت الگو مشاهده نمودند. همچنین با استفاده از شاخص ضریب تنوع نی دریافتند دو زیر واحد ω ,γ در مقایسه با α, β از ضریب تنوع بالاتری برخوردار بودند. ضعیفی‌زاده و همکاران (Zaefizadeh *et al.*, 2010) در مطالعه تنوع ژنتیکی باندهای

www.iapb.ir

گلیادین گندم دوروم منطقه شمال غرب ایران و آذربایجان ۶۶ باند پلی مورفیسم و ۸۱ الگوی باندی را مشاهده نمودند. آنها برای زیر واحد ω ۲۴ باند و ۱۴ الگوی باندی، ۱۴ باند چند شکل و ۲۰ الگوی باندی برای زیر واحد α و γ و ۱۴ باند و ۱۹ الگوی باندی برای زیر واحد β مشاهده کردند.

همبستگی بین داده های ملکولی و صفات کیفی

نتایج آنالیز همبستگی پیرسون بین صفات کیفی بذر ارقام گندم‌های مورد مطالعه با باندهای گلیادین شناخته‌شده در جدول ۳ نشان داده‌شده است. بر اساس نتایج مطالعه حاضر بین درصد رطوبت بذر و هیچ‌کدام از زیر واحدهای گلیادین همبستگی معنی‌دار مشاهده نشد. درصد پروتئین دانه با زیر واحد α_2 همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ نشان داد. همبستگی عدد زلنی با زیر واحدهای $ß_3$ و $ß_4$ در سطح احتمال ۵٪ مثبت و معنی‌دار بود. بین عدد سختی بذر و زیر واحدهای α_2 و γ_8 همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ مشاهده شد. ضریب همبستگی بین مقدار نشاسته بذر و زیر واحد γ 5 مثبت و معنی‌دار بود. بین درصد جذب آب و دو زیر واحد گلیادین γ_5 و ω_5 همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ دیده شد. درنهایت ضریب همبستگی وزن هزار دانه با γ 5 در سطح احتمال ۵٪ مثبت و معنی‌دار بود (جدول۴).

مطالعات مختلف از همبستگی بین صفات کیفی و تعیین ژنوتیپ پروتئین‌های گلوتنین و گلیادین برای یافتن الگوهای مولکولی مورد اعتماد برای غربالگری ارقام مختلف گندم استفاده کرده‌اند که در این مطالعه هم مورد تأکید بوده است. کوستا و همکاران (Costa *et al.*, 2013) با ارزیابی صفات کیفی مختلف مانند وزن هزار دانه، مقدار رسوب SDS، درصد پروتئین و غیره با الگوی توزیع آلل‌های گلوتنین و گلیادین برای یافتن رابطه بین آن‌ها استفاده کرده است و آلل‌های واجد همبستگی با این صفات را معرفی کرده است. نتایج بدست آمده در این تحقیق هم با روند ذکر شده همخوانی داشته و الگوهای اختصاصی ایجادکننده صفات برتر نانوایی شناسایی و معرفی گردید. ازطرف دیگر باید توجه داشت، اگرچه تنوع بالای این پروتئین‌ها در مطالعات مختلف مورد تأکید بوده است و همبستگی مثبت یا منفی آن‌ها با صفات مختلف کیفی نشان داده شده است، ولی توجه به تنها چند آلل زیر واحد این پروتئین‌ها که دارای همبستگی یا رابطه معنی‌دار بودند نمی‌تواند نتیجه قطعی و نهایی را بدست دهد و برای اطمینان بایستی به مجموعه همه زیر واحدها و همچنین سایر پروتئین‌ها مانند گلوتنین های با وزن مولکولی بالا و پایین هم توجه داشت.

ولیزاده و همکاران (۱۳۸۷) در مطالعه‌ای تحت عنوان ارتباط گلیادین‌ها و شاخص‌های کیفیت نانوایی در ارقام گندم زمستانه و بهاره شمال غرب کشور و مقایسه با ارقام اصلاح‌شده گزارش کردند در هر دو گروه زمستانه و بهاره همبستگی ۷ تا ۱۱ نوار گلیادین با برخی از این شاخص‌ها مثبت و معنی‌دار و با همین تعداد گلیادین منفی و معنی‌دار بود.

تجزیه رگرسیون داده‌های کیفی و مولکولی

در مطالعه حاضر برای تمام صفات تجزیه رگرسیون به روش Stepwise انجام شد. در مدل موردنظر صفات بررسی‌شده به‌عنوان متغیر تابع و داده‌های مولکولی (۱ و ۰) به‌عنوان متغیر ثابت وارد مدل رگرسیونی شدند. با توجه به صفات واردشده به مدل، باندهایی که مقدار R^2 بالایی داشتند مورد بحث و بررسی قرار گرفتند.

درصد پروتئین دانه

بر اساس نتایج جدول تجزیه رگرسیون گام به گام آلل‌های α_2، $ß_2$ و α_5 زیر واجد گلیادین اثر معنی‌داری بر تغییرات میزان پروتئین دانه نشان داده و وارد مدل رگرسیونی شدند. سه آلل α_2، $ß_2$ و$ß_6$ توانستند در مجموع ۷۰ درصد از تغییرات میزان پروتئین دانه را توجیه نمایند. چنانچه درصد پروتئین دانه متغیر وابسته (y) آلل‌های α_2، $ß_2$ و α_5 به ترتیب X_1، X_2 و X_3 متغیرهای ثابت باشند معادله خط رگرسیون به‌صورت ذیل پرازش می‌شود: $y = ۹/۳۹ + ۱/۲۷x_1 + ۱/۴۷x_2 + ۱/۰۶x_3$ اوگلن و همکاران (Olgun *et al.*, 2013) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم با استفاده از روش الکتروفروز SDS-PAGE اظهار داشتند بین الگوی باندی زیر واحد α و درصد پروتئین بذر رابطه مثبت و معنی‌دار دیده شد.

www.japb.kiau.ac.ir

عدد زلنی

در این بررسی بین آلل $ß_4$ زیر واحد گلیادین و عدد زلنی رابطه مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ دیده شد به‌طوری‌که مکان ژنی مذکور ۴۳ درصد از تغییرات عدد زلنی را توجیه نمود. معادله خط رگرسیون اثر آلل $ß_4$ بر تغییرات عدد زلنی به‌صورت $y = ۳۹/۸۳ + ۱۳/۸۷x$ پرازش می‌شود. رضایی (۱۳۸۶) گزارش کردند تنوع آللی در لوکوس Glu-D1 باعث وقوع حداکثر اختلافات مشاهده شده در مقدار رسوب، زمان اختلاط، مقاومت خمیر و حجم نان گردید.

میزان سختی دانه

بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام داده ها بین آلل α_2 زیر واحد گلیادین و میزان سختی دانه ارتباط معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت. آلل مذکور توانست ۴۶ درصد از تغییرات میزان سختی دانه را توجیه نماید. معادله خط رگرسیون آلل α_2 بر روی تغییرات میزان سختی دانه را می توان به‌صورت $y = ۴۹/۵۳ + ۲/۷۳x$ پرازش کرد . لوئو و همکاران (Luo *et al.*, 2001). در مطالعات خود بر روی ۶ لاین گندم نیوزیلندی به بررسی رابطه تنوع آللی مرتبط با LMW با سختی دانه پرداخته و گزارش کردند که بین سختی دانه و تنوع آللی در مکان ژنی Glu-B 3 همبستگی وجود ندارد.

میزان نشاسته

در تحقیق حاضر ارتباط بین مقدار نشاسته و تعداد باند γ_5 زیر واحد گلیادین مثبت و معنی‌دار بود به نحوی که ۳۶ درصد از تغییرات مقدار نشاسته بذر متأثر از آلل γ_5 گلیادین بود. معادله خط رگرسیون اثر آلل γ_5 بر میزان نشاسته دانه به‌صورت $y = ۶۷/۳۸ + ۱/۸۷x$ قابل پرازش بود. متاکوسکی و همکاران (Metakovsky *et al.*, 1996) در بررسی ارتباط بین آلل‌های گلیادین و مقدار نشاسته دانه در واریته های گندم ایتالیایی اظهار داشتند بین مکان‌های ژنی Gli-B1، Gli-B2 و Gli-A2 همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت و مکان‌های ژنی مذکور ۵۱ درصد از تغییرات مقدار نشاسته بذر را توجیه نمودند.

درصد جذب آب

بر اساس نتایج جدول تجزیه رگرسیون گام به گام زیر واحدهای γ_5 و ω_5 اثر معنی‌داری بر درصد جذب آب آرد نشان دادند. به‌طوری‌که آلل‌های ذکر شده توانستند در مجموع ۵۷ درصد از تغییرات صفت مذکور را توجیه نمایند. چنانچه درصد جذب آب آرد متغیر وابسته (y) زیر واحدهای γ_5 و ω_5 متغیر ثابت X_1 و X_2 باشد معادله خط رگرسیون به‌صورت $y = ۹۲/۳۲ - ۱۴/۰۵x_1 - ۱۶/۲۲x_2$ پرازش می‌شود. بنابراین می‌توان اظهار داشت وجود زیر واحدهای γ_5 و گلیادین باعث کاهش درصد جذب آب در ژنوتیپ‌های واجد این آلل‌ها می‌شوند.

وزن هزار دانه

بر اساس نتایج جدول تجزیه رگرسیون گام به گام داده‌ها زمانی که وزن هزار دانه به‌عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شود. نشان داد تغییرات مقدار صفت مذکور به‌صورت معنی‌داری به آلل γ_5 زیر واحد گلیادین وابسته است به‌طوری که۴۳ درصد از تغییرات وزن هزار دانه توسط مکان ژنی مذکور توجیه می‌شود. در این بررسی اثر آلل γ_5 بر میزان تغیرات وزن هزار دانه به صورت $y = ۲۸/۹۶ + ۴/۰۲x$ قابل پرازش بود. برانلارد و داروت (Branlard and Dardevet, 1985) در بررسی رابطه بین خواص کمی و کیفی ارقام گندم با زیر واحدهای گلیادین گزارش کردند در حدود ۳۷ تا ۵۴ درصد از خصوصیات کیفی گندم نان توسط ۷ تا ۱۲ زیر واحد گلیادین توجیه می‌شوند.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این تحقیق، داشتن آگاهی از وضعیت زیر واحدهای گلیادین در والدین و انتخاب والدین واجد زیرواحدهای مورد نظر جهت برنامه‌های به‌نژادی گندم و نیز انتخاب نتاج در نسل‌های در حال تفکیک بر اساس زیرواحدهای فوق، به عنوان مارکرهای بیوشیمیایی که از نظر کیفیت نانوایی مطلوب باشند ما را جهت به دست آوردن نتاج با کیفیت نانوایی بالا یاری می‌کند و به دست آوردن نتاج با کیفیت نانوایی بالا و زیر کشت بردن

www.iapb.kiau.ac.ir

آن‌ها به جای ارقام موجود باعث کاهش ضایعات نان شده و از واردات بیشتر گندم جلوگیری می‌کند.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات کیفی مرتبط با خصوصیات نانوایی گندم

Table 2. Analysis of variance of qualitative traits associated with baker's characteristics of wheat

منابع تغییر Sov	درجه آزادی df	میانگین مربعات							
		درصد رطوبت Moisture content	درصد پروتئین Protein percentage	عدد زلنی Zeleny number	سختی دانه Grain hardness	میزان نشاسته Starch content	درصد جذب آب Water absorption percentage	وزن هزار دانه Tkw
ژنوتیپ Genotype	29	0.70**	5.45**	440.97**	37.81**	17.60**	802.05**	62.85**
خطا Error	60	0.06	0.69	21.17	8.65	8.45	73.84	2.50
درصد ضریب تغییرات (CV%)		2.98	6.67	8.99	5.82	4.25	12.21	5.05

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد آماری

Ns, * and **: non-Significant, Significant at 5% and 1% levels of probability, respectively

جدول ۳- فراوانی و درصد فراوانی هریک از آلل‌های جایگاه ژنی گلیادین

Table 3. Allelic frequency of Gliadin gene site

جایگاه ژنی site	آلل Allele	تعداد ژنوتیپ Genotypes number	درصد فراوانی Frequency		آلل Allele	تعداد ژنوتیپ Genotypes number	درصد فراوانی Frequency
زیر واحدαگلیادین	α 1	24	24	زیر واحدßگلیادین	ß 1	15	14.70
	α 2	17	17		ß 2	20	19.60
	α 3	24	24		ß3	22	21.56
	α 4	16	16		ß4	25	24.50
	α 5	19	19		ß5	20	19.60
	جمع	100	-		جمع	102	-
زیر واحد γ گلیادین	γ 1	18	10.84	گلیادین زیر واحد ω	ω 1	20	14.49
	γ 2	25	15.06		ω2	20	14.49
	γ 3	22	13.25		ω 3	23	16.66
	γ4	21	12.65		ω 4	24	17.39
	γ 5	18	10.84		ω 5	25	18.11
	γ 6	20	12.04		ω 6	26	18.81
	γ 7	21	12.65		جمع	138	-
	γ8	21	12.65				
	جمع	166	-				

www.ijpb.kiau.ac.ir

جدول ۴- همبستگی صفات کیفی بذر ارقام گندم مورد مطالعه با آلل‌های شناسایی‌شده پروتئین گلیادین

Table 4. Correlation of seed quality traits with gliadin alleles in the studied wheat genotypes

الگوی باندی Bond Pattern	درصد رطوبت Moisture content	درصد پروتئین Protein percentage	عدد زلنی Zeleny number	سختی بذر Grain hardness	نشاسته Starch content	درصد جذب آب Water absorption percentage	وزن هزار دانه Tkw
α 1	0.25^{ns}	0.19^{ns}	0.29^{ns}	0.06^{ns}	-0.07^{ns}	0.07^{ns}	-0.13^{ns}
α 2	0.25^{ns}	0.47**	0.31^{ns}	0.46**	-0.04^{ns}	-0.04^{ns}	0.05^{ns}
α 3	0.19^{ns}	-0.13^{ns}	-0.25^{ns}	-0.18^{ns}	0.07^{ns}	-0.24^{ns}	0.18^{ns}
α 4	-0.13^{ns}	-0.05^{ns}	0.15^{ns}	0.03^{ns}	0.11^{ns}	-0.26^{ns}	0.29^{ns}
α 5	0.03^{ns}	-0.34^{ns}	0.22^{ns}	0.02^{ns}	-0.21^{ns}	0.31^{ns}	-0.24^{ns}
ß 1	-0.12^{ns}	-0.04^{ns}	0.02^{ns}	0.15^{ns}	0.10^{ns}	-0.22^{ns}	0. 30^{ns}
ß 2	-0.12^{ns}	-0.21^{ns}	-0.07^{ns}	0.21^{ns}	-0.24^{ns}	0.35^{ns}	-0.09^{ns}
ß 3	0. 14^{ns}	-0.31^{ns}	0.41*	0.05^{ns}	-0.05^{ns}	0.11^{ns}	-0.16^{ns}
ß 4	0.04^{ns}	0.34^{ns}	0.43*	0.18^{ns}	-0.03^{ns}	0.06^{ns}	-0.17^{ns}
ß 5	-0.30^{ns}	0.04^{ns}	0.13^{ns}	0.21^{ns}	-0.01^{ns}	-0.22^{ns}	0.17^{ns}
γ 1	0.12^{ns}	-0.25^{ns}	0.10^{ns}	0.07^{ns}	-0.02^{ns}	0.17^{ns}	-0.29^{ns}
γ 2	0.04^{ns}	0.06^{ns}	0.12^{ns}	-0.04^{ns}	-0.01^{ns}	0.02^{ns}	0.06^{ns}
γ 3	-0.11^{ns}	0.31^{ns}	0.41*	0.21^{ns}	-0.05^{ns}	0.11^{ns}	0.16^{ns}
γ 4	0.14^{ns}	0.28^{ns}	0.33^{ns}	0.27^{ns}	-0.02^{ns}	0.01^{ns}	-0.18^{ns}
γ 5	0.08^{ns}	-0.06^{ns}	-0.39^{ns}	-0.04^{ns}	0.37*	-0.42*	0.43*
γ 6	-0.28^{ns}	-0.16^{ns}	0.22^{ns}	-0.19^{ns}	-0.18^{ns}	0.25^{ns}	0.02^{ns}
γ 7	0.25^{ns}	0.24^{ns}	0.21^{ns}	-0.05^{ns}	-0.27^{ns}	-0.02^{ns}	-0. 11^{ns}
γ 8	-0.19^{ns}	0.26^{ns}	0.16^{ns}	0.38*	-0.08^{ns}	0.01^{ns}	-0.07^{ns}
ω 1	0.26^{ns}	-0.17^{ns}	0.04^{ns}	-0.17^{ns}	0.11^{ns}	-0.7^{ns}	-0.02^{ns}
ω 2	0.11^{ns}	0.05^{ns}	0.11^{ns}	0.01^{ns}	0.02^{ns}	-0.04^{ns}	0.10^{ns}
ω 3	-0. 20^{ns}	-0.08^{ns}	-0.02^{ns}	0.20^{ns}	0.14^{ns}	-0.04^{ns}	-0.06^{ns}
ω 4	-0.03^{ns}	0.17^{ns}	0.007^{ns}	-0.16^{ns}	0.15^{ns}	-0.23^{ns}	0.16^{ns}
ω 5	0.016^{ns}	0.015^{ns}	-0.01^{ns}	-0.26^{ns}	0.10^{ns}	0.37*	0.22^{ns}
ω 6	-0.03^{ns}	-0.08^{ns}	-0.04^{ns}	0.11^{ns}	0.17^{ns}	-0.03^{ns}	0.23^{ns}

www.iaob.kiau.ac.ir

فهرست منابع References

رجبی‌هشجین، م .، م. آقایی‌سربرزه، م. ح. فتوکیان.، و م. محمدی. ۱۳۹۲، ارزیابی صفات مرتبط با کیفیت پخت در ژنوتیپ‌های گندم دوروم و نان، مجله علمی پژوهشی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۳ (۴): ۴۱ – ۳۳.

رضایی، ع. م. ۱۳۸٦. رابطه بین زیرواحدهای گلوتنین با وزن ملکولی بالا با خصویلت کیفی آرد در لاین‌های نوترکیب گندم. علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱ (۱): ۱۹-۲۹.

ولیزاده، م.، ه. بدخشان.، ا. سفالیان.، ص. نصراله‌زاده. و ب. پیرایشفر. ۱۳۸۸. ارتباط گلیادین ها و شاخص‌های کیفیت نانوایی در ارقام گندم زمستانه و بهاره شمال غرب کشور و مقایسه با ارقام اصلاح شده. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۰(۴): ۹۱-۱۰۲.

شهریاری، ف. ۱۳۸۲. مطالعه ژنتیکی کیفیت نانوایی گندم‌های آبی و دیم در خراسان. گزارش نهایی پروژه مطالعاتی شورای پژوهش‌های علمی کشور.

Abdel-Ghany, H. M., A. A. Nawar., M. E. Ibrahim., A. El-Shamarka., M. M. Selim., and A. I. Fahmi. 2004. Using tissue culture to select for drought tolerance in bread wheat. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress Brisbane, Australia, 26 Sep -1 Oct.

Aliyeva, A., J. Ojaghi., and S. Mehdiyeva. 2012. Electrophoretic Profiles of Gliadin Subunits to Evaluate Genetic Diversity of Azerbaijan Synthetic Branched Spike Wheat Accessions. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 12 (10): 1343-1349.

Branlard, G., M. Dardevet., R. Saccomano., F. Lagoutte., and J. Gourdon. 2001. Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. Euphotic, 119: 59-67.

Costa, M. S., M. B. D. S, Scholz., and C. M. L. Franco. 2013. Effect of high and low molecular weight glutenin subunits, and subunits of gliadin on physicochemical parameters of different wheat genotypes. Food Science and Technology (Campinas), 33, 163-170.

Delcour, J. A., I. J. Joye., B. Pareyt., E. WilderjansBrijs., and B. Lagrain. 2012. Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. Annual review of food science and technology, 3: 469-492.

D'Ovidio, R. and S. Masci. 2004. The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. J Cereal Sci, 39:321-339.

FAO. 2015. FAOSTAT, http://faostat.fao.org/site/.

Hafeez Malik, A. 2009. Nutrient Uptake, Transport and Translocation in cereal, Influences of Environment and forming Conditions. Swedish University of Agricultural Sciences Alnarp, September 2009.

Luo, C., W. B. Griffin., G. Branlard., and D. L. McNeil. 2001. Comparison of low- and high molecular-weight wheat glutenin allele effects on flour quality. Theor. Appl. Genet. 102:1088–1098.

Metakovsky, E. V., P. Annicchiarico., G. Boggini., and N. E. Pogna. 1997. Relationship between gliadin alleles and dough strength in Italian bread wheat cultivars. J. Cereal Sci, 25: 229-236.

Ojaghi, J., and E. Akkundo. 2010. Genetic diversity in doubled haploid wheat according to the acid-PAGE method, morphological traits, and baking quality, Turk J Biol. 34: 343-353.

Olgun, M., N. Imren Kutlu., G. Ayter., Ö. Yorgancilar., and Z. Başçiftçi. 2013. Determination of Genetic Diversity in Bread Wheat (*T. Aestivum* L.) by Agronomic and Quality Traits and SDSPAGE Method. Global Journals Inc. 13 (8): 28-41.

www.iabt.iau.ac.ir

Ram, S., N. Jain., V. Dawar., R. P. Singh., and J. Shoran .2005. Analyses of acid-page gliadin pattern of Indian wheats (l.) representing different environments and periods. Crop sci. 45(4): 1256-1263.

Tyler, A. M., D. G. Bhandari., M. Poole., A. Napier., J. Jones., and G. W. Lycett. 2014. Gluten quality of bread wheat is associated with activity of RabD GTPases. Plant biotechnology journal.4 (3):28-39.

Zaefizadeh, M., S. Jamaati-e-Somarin., J. Ojaghi., S. M. Seyedi., R. Zabihi-e-Mahmoodabad., and M. Ochi. 2010. Genetic diversity for gliadin patterns of durum wheat landraces in the Northwest of Iran and Azerbaijan. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v.45, n.11, p.1425-1432

www.iapb.kiau.ac.ir

ISSN NO: 2008-8485

Journal of Agronomy and Plant Breeding
Vol 13. No. 3, 2017

Investigating the relationship between gliadin sub-units and grain quality traits in wheat

M. Khalili[1]*, R. Asadi[2], M. A. Ebrahimi[3]

Received date: 13 May 2017 Accepted date: 06 Aug 2017

Abstract

In order to investigating the relationship between gliadin sub-units and grain quality traits in wheat, 30 varieties and lines of wheat were evaluated in terms of allelic variation at the loci controlling Gliadin protein by Polyacrylamide gradient gel electrophoresis (A-PAGE). In this study number of bands observed in the varieties included 1-5 bands for α subunit, 1-5 bands for ß subunit, 3-8 bands for γ and 3-6 bands for ω subunit. Among α subunit allele's α_1 and α_3, between ß subunits alleles'$ß_4$, among γ subunit alleles of γ_1 and γ_5 and between ω subunits alleles of ω_5 and ω_6 showed the highest percentage of frequency. Percentage of protein with α_2 allele, zeleny number with $ß_3$ and $ß_4$ alleles, hardness number with α_2 and γ_8, and thousand kernel with ω_5 and γ_5 had positive and significant correlations, while amount of water absorption showed negative and significant correlations whit γ_5. Based on the stepwise regression analysis, between alleles α_2, $ß_2$ and α_5 with protein content, allele $ß_4$ and zeleny number, allele α_2 and hardness alleles, γ_5 with starch and ω_5 with flour water absorption rate and thousand kernels with γ_5 alleles statistically significant relationship was found. So the above subcultures can help as biochemical markers for high quality baker's progeny.

Keyword: Bread wheat, genetic diversity, Gliadin subunits, Quality traits.

www.iapb.kiau.ac.ir

1- Associate Professor, Department of Agriculture, Payamme Noor University, Iran.
2- Graduate of agricultural biotechnology- Payamme Noor University Karaj.
3- Associate Professor, Department of Agriculture, Payamme Noor University, Iran.
*- Corresponding author: makhalily@yahoo.com

Iranian Journal of Agronomy & Plant Breeding Islamic Azad University, Karaj Branch