دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

ارزیابی تنوع ژنتیکی خصوصیات کمی و کیفی ژنوتیپ‌های گندم در رابطه با زیر واحدهای گلوتنین با وزن ملکولی بالا

معروف خلیلی[۱]، مریم رستمی تهرانی[۲] و محمد علی ابراهیمی[۳]

۱- دانشیار بخش کشاورزی، دانشگاه پیام نور، (نویسنده مسوول: makhalily@yahoo.com)
۲- دانش‌آموخته بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور
۳- دانشیار بخش کشاورزی، دانشگاه پیام نور

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۵
صفحه: ۱۲۶ تا ۱۳۲

چکیده

به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی و خصوصیات کمی و کیفی ژنوتیپ‌های گندم در رابطه با زیر واحدهای گلوتنین با وزن ملکولی بالا، تعداد ۳۰ رقم و لاین امید بخش گندم از نظر تنوع آللی در مکان‌های ژنی کنترل‌کننده پروتئین گلوتنین به روش SDS-PAGE مورد ارزیابی قرار گرفت. الگوی باندی پروتئین‌های گلوتنین استخراج شده از بذر ارقام و لاین‌ها حاکی از حضور سه زیر واحد در جایگاه ژنی Glu-A1، چهار زیر واحد در جایگاه Glu-B1 و دو زیر واحد در جایگاه Glu-D1 بود. در مکان ژنی Glu-A1 آلل‌های نول، ۱ در مکان ژنی Glu-B1، زیر واحدهای ۷+۸ و ۱۷+۱۸ و در مکان ژنی Glu-D1 زیر واحدهای ۵+۱۰ دارای بالاترین فراوانی بودند. در تحقیق حاضر ژنوتیپ‌های زرین، پیشگام، آذر، رسول، توس، ۲۶ و ۲۹ با امتیاز ژنومی ۱۰ به‌عنوان بهترین ژنوتیپ‌ها از لحاظ کیفیت نانوایی شناسایی شدند. بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون داده‌ها آلل *۲ جایگاه ژنی Glu-A1، ۴۳ درصد از تغییرات درصد رطوبت دانه، آلل‌های *۲ جایگاه ژنی Glu-A1 و آلل ۵+۱۰ جایگاه ژنی Glu-D1 درمجموع ۵۲ درصد از تغییرات میزان پروتئین دانه، آلل ۵+۱۰ جایگاه ژنی Glu-D1، ۴۳ درصد از تغییرات عدد زلنی، آلل ۷+۸ جایگاه ژنی Glu-B1، ۴۰ درصد از تغییرات میزان سختی دانه و آلل ۱۳+۱۶ مکان ژنی Glu-B1 ۳۸ درصد از تغییرات میزان نشاسته دانه را توجیه نمودند.

واژه‌های کلیدی: الکتروفروز، زیر واحدهای گلوتنین (HMW)، SDS-PAGE، گندم

مقدمه

پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه گندم به دلیل داشتن پلی مورفیسم 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 گلوتنین‌ها به دلیل داشتن تنوع زیاد، آسان بودن استخراج و تجزیه الکتروفورزی به اجزاء تشکیل دهنده خود به‌عنوان یکی از بهترین نشانگرهای پروتئینی در شناسایی ارقام و تعیین کیفیت گندم نان به کار می‌روند. تفکیک پروتئین‌های گلوتنین با الکتروفورز به روش SDS-PAGE با مطالعه چند شکلی‌های موجود در پروتئین گلیادین می‌تواند برای پیش‌بینی کیفیت نانوائی ژنوتیپ‌های مختلف گندم بکار رود (۱۴). زیر واحدهای پروتئینی با وزن مولکولی بالا، توسط مکان ژنیGlu1 واقع بر روی بازوی بلند کروموزوم‌های گروه ۱، کد می‌شوند که هر مکان شامل دو ژن کدکننده برای تیپ زیر واحدی نوع X و تیپ زیر واحدی نوع Y می‌باشد (۱۷). به دلیل اینکه این دو زیر واحد (X و Y) ممکن است که در مکان ژنیGlu1 تظاهر نیابند (برای مثال، در مکان Glu-A1 ممکن است تیپ Y و یا هر دو تیپ X و Y بیان نشوند)، لذا تنها سه ژن از پنج ژن HMW-GS در گندم‌های هگزاپلوئید با کمک روش SDS-PAGE قابل شناسایی و بررسی است (۱۷،۵) تنوع آللی HMW-GS تأثیر مهمی بر روی کیفیت آرد دارد، برای مثال زیر واحدهای 1Ax *2، 1Dy5 و 1Dy10 رابطه نزدیکی با کیفیت خمیر به‌خصوص استحکام آن دارند (۱،۷). ممدوح و همکاران (۶) اظهار کردند که پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه به‌عنوان یک نشانگر مؤثر برای تعیین ژنوتیپ‌های باکیفیت بالا اثر مستقیم دارد. فاتحی و همکاران (۲) در مطالعه رابطه زیر واحدهای گلوتنین با وزن ملکولی بالا و کیفیت نانوایی در گندم اظهار داشتند بیشترین فراوانی در مکان Glu-A1 مربوط به زیر واحد *۲ (۴۱/۲۵٪) و در مکان Glu-B1 مربوط به زیر واحد ۷+۸ (۴۵٪) و در مکان Glu-D1 مربوط به زیر واحد ۵+۱۰ (۴۸/۷۵٪) بودند. همچنین بر اساس نتایج رگرسیون گام به‌گام مشاهده کردند که زیر واحدهای ۵+۱۰، ۱۷+۱۸ و ۷+۸ به ترتیب وارد مدل شده و ۳۱/۴ درصد از تغییرات ارتفاع رسوب را توجیه نمودند. حق‌پرست و همکاران (۳) در ارزیابی شاخص‌های مرتبط باکیفیت دانه در ژنوتیپ های پیشرفته گندم نان در شرایط دیم ۲۵ ژنوتیپ پیشرفته گندم نان را با رقم سرداری مقایسه کردند آن‌ها دریافتند ژنوتیپ های شماره ۱۱ (OK82282//BOW/NKT/3/F4105W2.1)، ۱۷ (hods*3/Kavvko//Ghods*3/kaz/kavko) با امتیاز ژنومی ۱۰ (حداکثر امتیاز) برترین ژنوتیپ‌ها بوده و ژنوتیپ شماره ۱۸ ((ALMATY POLUKOVILIK) نیز با امتیاز ژنومی ۹ در رتبه بعدی قرار گرفت. قریشی و همکاران (۱۲) در بررسی ارتباط بین ترکیب آللی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا با صفات کیفی دانه در برخی از ارقام گندم نان درمجموع ۱۴ آلل و ۹ ترکیب آللی در گندم‌های نان مورد مطالعه تشخیص دادند آن‌ها همچنین گزارش کردند در مکان ژنی Glu-A1 فراوانی زیر واحد *۲، زیر واحد نول[1] و زیر واحد ۱ به ترتیب ۵۲، ۳۶ و ۱۲ درصد بود در مکان ژنی Glu-B1 ترکیب‌های آللی ۷+۸ و ۱۳+۱۶ به ترتیب ۴۰ و ۸ درصد بیشترین و کمترین فراوانی را داشتند در مکان ژنی Glu-D1 نیز ۴۰ درصد ارقام دارای ترکیب آللی ۵+۱۰ و ۶۰ درصد بقیه دارای ترکیب آللی ۱۲+۲ بودند. یاسمین و همکاران (۲۰) در مطالعه تنوع ژنتیکی برای وزن گلوتنین با زیر واحد مولکولی بالا (HMW-GS) در توده بومی و ارقام تجاری گندم نان

1- Null

پاکستان اظهار داشتند زیر واحدهای *۲، ۱۰+۵ و ۱۸+۱۷ بیشترین اثر مثبت را در کیفیت نانوایی ارقام مورد بررسی نشان دادند. با توجه به موارد ذکر شده مطالعه حاضر به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی و خصوصیات کمی و کیفی ژنوتیپ‌های گندم در رابطه با زیر واحدهای گلوتنین با وزن ملکولی بالا انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۳۰ رقم و لاین امید بخش گندم از نظر تنوع آللی در مکان‌های ژنی کنترل‌کننده پروتئین گلوتنین به‌روش SDS-PAGE مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. صفات کمی شامل وزن هکتولیتر و وزن هزاردانه پس از آسیاب کردن نمونه‌ها، صفات کیفی شامل میزان پروتئین، حجم رسوب زلنی، سختی دانه، درصد رطوبت بذر، SDS رسوب با شاخص گلوتن و مقدار نشاسته بر اساس استانداردهای انجمن بین‌المللی علوم و تکنولوژی غلات (ICC) انجام گرفت. برای تعیین صفات میزان پروتئین آرد، حجم رسوب زلنی، سختی دانه و میزان جذب آب از دستگاه NIR PERTEN 8600 استفاده شد.

برای استخراج پروتئین‌های گلوتنین از بذر پس از جداسازی آندوسپرم، ابتدا با شستشوی چند مرحله در الکل پروتئین‌های گلیادین حذف و در نهایت با استفاده از بافر استخراج پروتئین‌های گلوتنین جداسازی شد. برای این منظور آندوسپرم بذر هر کدام از ارقام به‌طور جداگانه در هاون چینی پودر گردید. مقدار ۵۰ میلی‌گرم از پودر به‌دست‌آمده به داخل تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد و مراحل استخراج گلوتنین بر اساس روش Van Den Broeck و همکاران (۱۹) انجام گرفت. برای آنالیز این نمونه‌ها مقدار ۲۲ میکرولیتر از پروتئین استخراج شده با ۸ میکرولیتر از بافر رنگی ساخته شده مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس وارد چاهک‌های ژل ساخته شده گردید و الکتروفورز اجرا گردید. برای اجرای الکتروفورز عمودی پروتئین‌های گلوتنین از سیستم الکتروفورزی استاندارد پایا پژوهش و استفاده از اسپیسر ۱ میلی‌متری و شانه ۱۸ تایی استفاده شد. برای ساخت ژل مورد نیاز ابتدا تمامی محلول‌ها ساخته و قطعات شیشه‌ایی و پلاستیکی دستگاه با آب مقطر و الکل شسته و با رعایت نکات ایمنی برای ساختن ژل همگن و مناسب استفاده شدند. در این مطالعه از ژل بالای ۵ درصد و ژل پایین ۱۰ درصد استفاده شد. پس از اتمام الکتروفورز، شیشه‌ها با احتیاط باز شده و ژل برداشته شد و به داخل ظرف حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول رنگ‌آمیزی انتقال داده شد و به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد. پس از رنگ‌آمیزی، محلول کوماسی بلو تخلیه و پس از دو بار شستشو با آب مقطر مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول رنگ بری به آن اضافه شد و به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد تا باندهای مورد نظر با وضوح مناسب مشخص شوند. در نهایت ژل رنگ‌آمیزی شده با دقت ۶۰۰dpi اسکن شده و ژل داخل پوشه پلاستیکی مخصوص تثبیت شد. تصاویر به دست آمده برای آنالیزهای آماری مورد استفاده قرار گرفت. جهت آنالیز آماری نتایج مرتبط با الگوی باندی پروتئین گلوتنین ارقام گندم مورد مطالعه وارد نرم‌افزار Excell و فراوانی هرکدام از زیر واحدهای شناسایی شد. برای بررسی ارتباط بین خصوصیات کیفی بذر (صفات رطوبت، درصد پروتئین، عدد زلنی، درصد نشاسته و سختی دانه) و داده‌های ملکولی از آزمون همبستگی پیرسون با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. همچنین تمام صفات تجزیه رگرسیون به روش Stepwise به کمک نرم‌افزار SPSS انجام شد. به طوری که صفات کیفی به‌عنوان متغیر تابع و داده‌های مولکولی (۱ و ۰) به‌عنوان متغیر ثابت وارد مدل رگرسیونی شدند.

نتایج و بحث

شناسایی زیر واحدهای HMW گلوتنین

در این مطالعه الگوی باندی پروتئین‌های گلوتنین استخراج شده از بذر ارقام و لاین‌های امید بخش گندم مورد مطالعه با استفاده از SDS-PAGE حاکی از حضور سه زیر واحد در جایگاه ژنی Glu-A1، چهار زیر واحد در جایگاه Glu-B1 و دو زیر واحد در جایگاه Glu-D1 بود (جدول ۱). نیکوسرشت و همکاران (۱۰) در مطالعه ارزیابی کیفیت نانوایی ارقام و لاین‌های گندم نان با استفاده از آزمایش ارتفاع رسوب SDS و زیر واحدهای سنگین گلوتنین تعداد ۵۷ لاین پیشرفته گندم آبی مناطق معتدل کشور را مورد بررسی قرار دادند آن‌ها در مکان ژنی Glu-A1 سه زیر واحد در مکان ژنی Glu-B1 پنج زیر واحد و در مکان ژنی Glu-D1 دو زیر واحد شناسایی کردند. در مکان ژنی Glu-A1 آلل‌های نول، ۱ و *۲ به ترتیب دارای فراوانی‌های ۲۰، ۴۶/۶۶ و ۳۳/۳۳ درصد بود. پایین بودن فراوانی آلل نول که از ارزش کیفی کمتری برخوردار است در بین ارقام و لاین‌های امیدبخش قابل انتظار می‌باشد؛ بنابراین جهت بهبود خواص نانوایی باید ژنوتیپ‌هایی گزینش شوند و یا به‌عنوان والد جهت تلاقی‌های بعدی در نظر گرفته شوند که در مکان ژنیGlu-A1، یکی از دو آلل ۱ و*۲ را داشته باشند. در مکان ژنی Glu-B1 زیر واحدهای ۸+۷ و ۱۸+۱۷ دارای بیشترین فراوانی (۳۳/۳۳ درصد) بود زیر واحد ۹+۷ با فراوانی، ۲۳/۳۳ در رتبه بعدی قرار گرفت در بین زیر واحدهای مکان ژنی Glu-B1 زیر واحدهای ۱۶+۱۳ از کمترین فراوانی (۱۰ درصد) برخوردار بود. در مکان ژنی Glu-D1 زیر واحدهای ۱۰+۵ دارای فراوانی بیشتری (۵۳/۳۳ درصد) بوده و زیر واحد ۱۲+۲ هم دارای فراوانی ۴۶/۶۶ درصد می‌باشند. در تحقیق مشابه صیفی و همکاران (۱۶) در بررسی چندشکلی ارقام گندم نان ایرانی ازلحاظ واحدهای سنگین گلوتنین بیشترین فراوانی در مکان ژنی Glu-A1 مربوط به زیر واحد نول (۸۱/۸۱ درصد) در مکان ژنی Glu-B1 مربوط به زیر واحد ۸+۷ (۴۸/۴) و در مکان Glu-D1 مربوط به زیر واحد ۱۲+۲ (۶/۶۶ درصد) بود.

فاتحی و همکاران (۲) اظهار داشتند بیشترین فراوانی در مکان Glu-A1 مربوط به زیر واحد *۲ (۴۱/۲۵٪) و در مکان Glu-B1 مربوط به زیر واحد ۸+۷ (۴۵٪) و در مکان Glu-D1 مربوط به زیر واحد ۱۰+۵ (۴۸/۷۵٪) بودند. بر اساس نتایج جدول ۲ مشاهده شد در بین ۳۰ ژنوتیپ مورد

بررسی ۹۰ زیر واحد سنگین گلوتنین مشاهده شد که بیشترین تعداد با درصد فراوانی ۱۷/۷۸ درصد به زیر واحد ۱۰+۵ مکان ژنی Glu-D1 اختصاص داشت بعد از زیر واحد مذکور دو زیر واحد ۱ از مکان ژنی Glu-A1 و ۱۲+۲ از مکان ژنی Glu-D1 در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. کمترین درصد فراوانی در بین زیر واحدهای مورد بررسی (۳/۳۳ درصد) به زیر واحد ۱۶+۱۳ مکان ژنی Glu-B1 اختصاص داشت. با توجه به اینکه فراوانی بیشتر ترکیب ۱۲+۲ نسبت به ۱۰+۵ با کیفیت ضعیف‌تر همبستگی دارد بنابراین گزینش ارقام و لاین‌هایی که دارای زیر واحد ۱۰+۵ هستند جهت بهبود خواص کمی و کیفی در نسل‌های آینده توصیه می‌شود. در بررسی ارتباط بین زیر واحدهای سنگین گلوتنین و استحکام گلوتن مشاهده شد که جایگاه ژنی Glu-D1 مهم‌ترین مکان ژنی است که در آن زیر واحد۱۰+۵ دارای ارزش بالایی در این ارتباط است در خصوص نقش مکان ژنی Glu-D1 به‌خصوص برتری ترکیب آللی۱۰+۵ نسبت به ۱۲+۲ گزارش‌های زیادی وجود دارد (۸). رجبی هشتجین و همکاران (۱۳) در ارزیابی صفات مرتبط باکیفیت پخت در ژنوتیپ‌های گندم دوروم و نان گزارش کردند در زیر واحدهای سنگین گلوتنین، مکان ژنی Glu-A 1 در ارقام فلات و ایگل به ترتیب آلل یک *۲، آلل *۲ در سه ژنوتیپ Wc-45505، Wc-3122، Kc- 525 و برای مکان ژنی Glu-B1 در رقم فلات آلل ۷+۹ و در رقم ایگول و Verinac آلل ۱۷+۱۸ وجود داشت و همچنین در ژنوتیپ‌های (TN- 12595،TN-12567) آلل‌های ۷+۸ را مشاهده نمودند.

پس از شناسایی زیر واحدهای پروتئینی HMW گلوتنین ارقام گندم مورد بررسی، امتیاز نانوایی آن‌ها بر اساس امتیاز تعلق‌گرفته به هرکدام از این زیر واحدهای پروتئینی و بر اساس روش پنی و همکاران (۱۱) برآورد گردید و نتایج آن در جدول ۳ نشان داده شده است. در ارزیابی ۳۰ ژنوتیپ مورد بررسی گندم از لحاظ ارزش نانوایی مشاهده شد ژنوتیپ‌های زرین، پیشگام، آذر، رسول، توس، ۲۶ و ۲۹ با امتیاز ژنومی ۱۰ به‌عنوان بهترین ژنوتیپ ها از لحاظ کیفیت نانوایی شناسایی شدند. در این بین ژنوتیپ طبسی با امتیاز ژنومی ۵ و ژنوتیپ‌های امید و شعله هر دو با امتیاز ژنومی ۷ به‌عنوان ضعیف‌ترین ژنوتیپ از لحاظ ارزش نانوایی شناسایی شد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان اظهار داشت که دو لاین امیدبخش شماره ۲۶ و ۲۹ کیفیت لازم برای گزینش برای برنامه‌های آینده را دارا می‌باشند. حق پرست و همکاران (۳) در ارزیابی شاخص‌های مرتبط با کیفیت دانه در ژنوتیپ‌های پیشرفته گندم نان در شرایط دیم ۲۵ ژنوتیپ پیشرفته گندم نان را با رقم سرداری مقایسه کردند آن‌ها دریافتند ژنوتیپ‌های شماره ۱۱ (OK82282//BOW/NKT/3/F4105W2.1)، ۱۷ (hods*3/Kavvko//Ghods*3/kaz/kavko) با امتیاز ژنومی ۱۰ برترین ژنوتیپ‌ها بودند ژنوتیپ شماره ۱۸ (ALMATY POLUKOVILIK) نیز با امتیاز ژنومی ۹ در رتبه بعدی قرار گرفت. امتیاز ژنومی رقم زراعی سرداری برابر ۸ بود.

همبستگی بین صفات و داده‌های ملکولی

در بررسی حاضر ضریب همبستگی بین رطوبت دانه و آلل *۲ زیر واحد Glu-A1 مثبت و معنی‌دار بود. همبستگی بین درصد پروتئین دانه و آلل ۱۰+۵ زیر واحد Glu-D1 و آلل *۲ زیر واحد Glu-A1 مثبت و معنی‌دار و با آلل ۱۲+۲ همین زیر واحد منفی و معنی‌دار بود (جدول ۴). در حالی که همبستگی عدد زلنی با زیر واحد ۱۰+۵ و معنی‌دار بود. ضریب سختی دانه با آلل ۸+۷ زیر واحد Glu-B1 همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. ضریب همبستگی نشاسته نیز با زیر واحد ۱۶+۱۳ مثبت و معنی‌دار بود.

تجزیه رگرسیون داده‌های کیفی و مولکولی

در مطالعه حاضر برای تمام صفات تجزیه رگرسیون به روش Stepwise انجام شد. در مدل مورد نظر صفات بررسی‌شده به‌عنوان متغیر تابع و داده‌های مولکولی (۱ و ۰) به‌عنوان متغیر ثابت وارد مدل رگرسیونی شدند. با توجه به صفات وارد شده به مدل، باندهایی که مقدار R^2 بالایی داشتند مورد بحث و بررسی قرار گرفتند. درصد رطوبت دانه: نتایج تجزیه رگرسیون داده‌ها نشان داد بین آلل *۲ جایگاه ژنی Glu-A1 و درصد رطوبت دانه ارتباط معنی‌دار از لحاظ آماری در سطح ۵٪ مشاهده شد آلل مذکور ۴۳ درصد از تغییرات درصد رطوبت دانه را در مطالعه حاضر تبیین نمودند. چنانچه درصد رطوبت دانه متغیر وابسته (y) و آلل *۲ متغیر ثابت (x) باشد معادله خط رگرسیون به‌صورت زیر برازش می‌شود (جدول ۵).

$$y = ۰/۱۰ + ۰/۱۷x$$

درصد پروتئین دانه

بر اساس نتایج جدول تجزیه رگرسیون گام به گام آلل‌های *۲ جایگاه ژنی Glu-A1 و آلل ۱۰+۵ جایگاه ژنی Glu-D1 اثر معنی‌داری بر تغییرات میزان پروتئین دانه نشان دادند. به‌طوری که آلل‌های ذکر شده توانستند در مجموع ۵۲ درصد از تغییرات میزان پروتئین دانه را توجیه نمایند (جدول ۶). چنانچه درصد پروتئین دانه متغیر وابسته (y) و اثر آلل‌های *۲ و ۱۰+۵ متغیرهای مستقل در نظر گرفته شوند معادله خط رگرسیون به صورت زیر قابل برازش بود.

$$y = ۱۱/۶۵ + ۱/۰۵x_1 + ۱/۰۳x_2$$

بنابراین می‌توان اظهار داشت که جایگاه و مکان ژنی کنترل‌کننده صفت پروتئین دانه ارتباط بسیار نزدیکی با مکان‌های دو ژن Glu-A1 و Glu-D1 دارد. رضایی (۱۵) رابطه بین کیفیت آرد و زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا را با استفاده از لاین های هموزیگوت تصادفی حاصل از تلاقی بین ۵ واریته با ارزش نانوایی کم و زیاد و دارای آلل‌های مختلف در ۳ لوکوس کنترل‌کننده پروتئین ذخیره‌ای گندم توسط روش SDS-PAGE مورد مطالعه قرار داد.

عدد زلنی

بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام داده‌ها بین آلل ۱۰+۵ جایگاه ژنی Glu-D1 و میزان تغییرات عدد زلنی رابطه مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت به‌طوریکه مکان ژنی مذکور ۴۳ درصد از تغییرات عدد زلنی را

در تحقیق حاضر توجیه نمود (جدول ۷). چنانچه عدد زلنی متغیر وابسته (y) و آلل ۱۰+۵ متغیر ثابت (x) باشد معادله خط رگرسیون به‌صورت برازش می‌شود.

$$y = ۵۴/۴۵ + ۱۷/۲۴x$$

نجفیان و همکاران (۹) برای بررسی رابطهٔ بین کیفیت آرد و زیر واحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا و ارزش نانوایی گندم نان، ۱۵۴ لاین به نژادی گندم که برای ارزش نانوایی انتخاب شده بودند را با استفاده از روش SDS-PAGE الکتروفورز کردند، آن‌ها نتیجه گرفتند که اثر مکان‌های ژنی سه‌گانه Glu-A1، Glu-B1 و Glu-D1 در تغییر حجم رسوب زلنی و حجم رسوب SDS از نظر آماری معنی‌دار است و برای این دو صفت زیر واحدهای ۱، *۲ بهتر از نول و زیر واحدهای ۱۰–۵ بهتر از ۱۲+۲ بود.

میزان نشاسته

نتایج جدول تجزیه رگرسیون گام به‌گام داده‌ها زمانی که میزان نشاسته به‌عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شد (جدول ۸) نشان داد تغییرات مقدار صفت مذکور به‌صورت معنی‌داری به آلل ۱۶+۱۳ مکان ژنی Glu-B1 وابسته است به‌طوری ۳۸ درصد از تغییرات میزان نشاسته دانه توسط مکان ژنی مذکور توجیه می‌شود (جدول ۴–۱۷ و ۴–۱۸). چنانچه میزان نشاسته دانه متغیر وابسته (y) و آلل ۱۶+۱۳ متغیر ثابت (x) باشد معادله خط رگرسیون به‌صورت رابطه زیر برازش می‌شود.

$$y = ۶۷/۱۸ + ۳/۰۱x$$

بر اساس نتایج مطالعه حاضر ژنوتیپ‌های زرین، پیشگام، آذر، رسول، توس، ۲۶ و ۲۹ بالاترین امتیاز کیفیت نانوایی را کسب کردند. چنانچه مشاهده شد دو لاین امیدبخش ۲۶ و ۲۹ از کیفیت نانوایی مشابه ارقام پر محصول برخوردار هستند بنابراین پیشنهاد، می‌توان از این دو ژنوتیپ‌ها به عنوان والدین جهت دیگر برنامه‌های اصلاحی استفاده شود. در این تحقیق بین داده‌های ملکولی و داده‌های کیفی رابطه مثبت و معنی‌داری وجود داشت بنابراین از خصوصیات کیفی می‌توان جهت گزینش به کمک مارکر[1] استفاده نمود.

جدول ۱– ترکیب زیر واحدهای HMW گلوتنین ژنوتیپ‌های مختلف گندم مورد مطالعه

Table 1. The composition of the subunits of the HMW glutenin in various wheat genotypes

نام رقم	Glu-A1	Glu-B1		Glu-D1		نام رقم	Glu-A1	Glu-B1		Glu-D1	
		X	Y	X	Y			X	Y	X	Y
سرداری	1	۱۷	۱۸	۲	۱۲	C-84-1	2*	۷	۹	۵	۱۰
طبسی	N	۷	۹	۲	۱۲	C-84-2	N	۷	۸	۲	۱۲
اروم	N	۱۸	۱۷	۵	۱۰	C-84-3	1	۱۷	۱۸	۲	۱۲
زارع	1	۷	۸	۲	۱۲	C-84-4	1	۱۷	۱۸	۲	۱۲
میهن	2*	۷	۸	۲	۱۲	C-84-5	1	۷	۹	۵	۱۰
زرین	2*	۷	۸	۵	۱۰	C-84-6	2*	۱۷	۱۸	۲	۱۲
پیشگام	2*	۱۸	۱۷	۵	۱۰	C-84-7	2*	۷	۸	۲	۱۲
آذر	2*	۱۳	۱۶	۵	۱۰	C-84-8	1	۷	۸	۲	۱۲
بزوستایا	1	۱۸	۱۷	۲	۱۲	C-84-9	1	۷	۹	۵	۱۰
امید	N	۷	۹	۵	۱۰	C-84-10	1	۷	۸	۲	۱۲
شعله	N	۷	۹	۵	۱۰	C-84-11	1	۱۷	۱۸	۵	۱۰
فلات	1	۱۷	۱۸	۲	۱۲	C-84-12	2*	۷	۸	۲	۱۲
رسول	1	۷	۸	۵	۱۰	C-84-13	2*	۷	۹	۵	۱۰
توس	1	۷	۸	۵	۱۰	C-84-14	1	۱۳	۱۶	۵	۱۰
پیشتاز	2*	۱۷	۱۸	۵	۱۲	C-84-15	N	۱۳	۱۶	۵	۱۰

جدول ۲– فراوانی آلل‌های پروتئین گلوتنین در ژنوتیپ‌های مختلف گندم مورد ارزیابی

Table 2. Frequency of protein glutenin alleles in different wheat genotypes

	Glu-A1			Glu-B1			Glu-D1	
آلل	N	1	2*	7+8	7+9	17+18	13+16	5+10	2+12
تعداد ژنوتیپ	۶	۱۴	۱۰	۱۰	۷	۱۰	۳	۱۶	۱۴
فراوانی	۲۰	۴۶/۶۶	۳۳/۳۳	۳۳/۳۳	۲۳/۳۳	۳۳/۳۳	۱۰	۵۳/۳۳	۴۶/۴۶

1- Marker Assisted Selection (MAS)

جدول ۳- امتیاز نانوایی ژنوتیپ‌های مورد بررسی

Table 3. Bakery rating of the studied genotypes

نام رقم گندم	امتیاز آللی	امتیاز ژنوم	نام رقم گندم	امتیاز آللی	امتیاز ژنوم
سرداری	2+3+3	۸	C-84-1	4+2+3	۹
طبسی	2+2+1	۵	C-84-2	4+3+1	۹
اروم	4+3+1	۸	C-84-3	2+3+3	۸
زارع	2+3+3	۸	C-84-4	2+3+3	۸
میهن	2+3+3	۸	C-84-5	4+2+3	۹
زرین	4+3+3	۱۰	C-84-6	2+3+3	۸
پیشگام	4+3+3	۱۰	C-84-7	2+3+3	۸
آذر	4+3+3	۱۰	C-84-8	2+3+3	۸
بزوستایا	2+3+3	۸	C-84-9	4+2+3	۹
امید	4+2+1	۷	C-84-10	2+3+3	۸
شعله	4+2+1	۷	C-84-11	4+3+3	۱۰
فلات	2+3+3	۸	C-84-12	2+3+3	۸
رسول	4+3+3	۱۰	C-84-13	4+2+3	۹
توس	4+3+3	۱۰	C-84-14	4+3+3	۱۰
پیشتاز	2+3+3	۸	C-84-15	4+3+1	۸

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین صفات کیفی مورد ارزیابی

Table 4. Correlation coefficients between qualitative characteristics

	Glu-A1			Glu-B1				GluD	
	1	2*	N	7+8	7+9	17+18	13+16	5+10	2+12
رطوبت دانه	-۰/۳۹^{ns}	۰/۴۳**	-۰/۱۳^{ns}	-۰/۰۶^{ns}	۰/۱۹^{ns}	۰/۱۰^{ns}	۰/۰۵^{ns}	۰/۱۶^{ns}	۰/۱۶^{ns}
درصد پروتئین	-۰/۰۷^{ns}	۰/۴۴**	-۰/۱۲^{ns}	-۰/۱۰^{ns}	۰/۱۶^{ns}	۰/۱۹^{ns}	-۰/۰۹^{ns}	۰/۳۷*	-۰/۳۷*
عدد زلنی	-۰/۰۷^{ns}	۰/۳۴^{ns}	-۰/۳۱^{ns}	۰/۱۵^{ns}	-۰/۱۲^{ns}	۰/۰۶^{ns}	-۰/۰۳^{ns}	۰/۴۳*	۰/۰۴^{ns}
سختی دانه	-۰/۰۹^{ns}	۰/۰۸^{ns}	-۰/۰۵^{ns}	۰/۴۰*	۰/۰۵^{ns}	-۰/۲۱^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۰/۰۳*	۰/۰۳^{ns}
نشاسته	-۰/۱۴^{ns}	۰/۱۰^{ns}	۰/۲۴^{ns}	-۰/۰۳^{ns}	۰/۰۳^{ns}	-۰/۲۴^{ns}	۰/۳۸*	۰/۲۹^{ns}	۰/۲۵^{ns}
درصد جذب آب	-۰/۰۶^{ns}	-۰/۱۰^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۴^{ns}	-۰/۱۷^{ns}	۰/۰۱۲^{ns}	-۰/۰۲^{ns}	۰/۲۱^{ns}	۰/۱۵^{ns}
وزن هزار دانه	۰/۰۶^{ns}	۰/۱۰^{ns}	۰/۱۲^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۰/۱۴^{ns}	-۰/۲۲^{ns}	-۰/۰۹^{ns}	۰/۳۴^{ns}	۰/۳۴^{ns}

ns، * و **: به‌ترتیب عدم‌معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد آمار

جدول ۵- نتایج رگرسیون گام‌به‌گام اثر آلل‌های مورد بررسی بر درصد رطوبت دانه

Table 5. Results of stepwise regression analysis of the effect of alleles on grain moisture content

جایگاه ژنی	B	انحراف معیار	Beta (استاندارد)	ضریب (R^2)	P
عدد ثابت	۸/۲۲	۰/۱۰	–	-	۰/۰۰
Glu-A1 ۲*	۰/۴۲	۰/۱۷	۰/۴۲	۰/۴۳	۰/۰۲

جدول ۶- نتایج رگرسیون گام به گام اثر آلل‌های مورد بررسی بر درصد پروتئین دانه

Table 6. Results of stepwise regression analysis of the effect of alleles on grain protein content

جایگاه ژنی		B	انحراف معیار sd	Beta (استاندارد)	ضریب (R^2)	P
عدد ثابت		۱۱/۶۵	۰/۳۵	–	-	۰/۰۰
Glu-D1	۵+۱۰	۱/۰۵	۰/۴۳	۰/۳۹	۰/۳۷	۰/۰۲۲
Glu-A1	۲	۱/۰۳	۰/۴۶	۰/۳۶	۰/۵۲	۰/۰۳۲

جدول ۷- نتایج رگرسیون گام‌به‌گام اثر آلل‌های مورد بررسی بر عدد زلنی

Table 7. Results of stepwise regression analysis of the effect of alleles on Zeleny number

جایگاه ژنی		B	انحراف معیار sd	Beta (استاندارد)	ضریب (R^2)	P
عدد ثابت		۵۰/۲۵	۰/۶۱	–	–	۰/۰۰
Glu-D1	۵+۱۰	۲/۵۱	۱/۰۶	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۰۲۶

جدول ۸- نتایج رگرسیون گام‌به‌گام اثر آلل‌های مورد بررسی بر میزان نشاسته

Table 8. Results of stepwise regression analysis of the effect of alleles on Starch content

جایگاه ژنی		B	انحراف معیار sd	Beta (استاندارد)	ضریب (R^2)	P
عدد ثابت		۶۸/۱۹	۰/۴۳	–	–	۰/۰
Glu-B1	۱۳+۱۶	۳/۰۱	۱/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۰۳

منابع

1. Butow, B.J., P.W.Gras, R. Haraszi and F. Bekes. 2003. Effects of Different Salts on Mixing and Extension Parameters on a Diverse Group of Wheat Cultivars Using 2-g Mixograph and Extensigraph Methods. Cereal Chemistry, 79: 826-833.
2. Fatehi, F., M. Maleki, O. Salavat, M.R. Bihamta, A.S. Zali and A. HosseinZadeh. 2008. Determination of the relationship between high molecular weight glutenins and the quality of bakery products in bread wheat. Journal of Crop Science, 39(1): 52-43 (In Persian).
3. Hagh Parast, R., R. Rajabi, G.K. Najafian, R. Karim and M. Aghaie sarbarze. 2009. Evaluation of grain quality indicators in advanced bread wheat genotypes in dryland conditions. Journal of Breeding Seedlings and Seeds, 1(25): 328-315 (In Persian).
4. Keyhani, T., A.A. Shah Nejat Bushehr and M. Shrub. 2015. The molecular study of heavy glutenin subunits in bread wheat. New Genetic, 10(1): 99-106 (In Persian).
5. Lawrence, G.J. and K.W. Shepherd. 1981. Variation in gluten in protein Subunits of wheat. Australian Journal of Biological Sciences Society, 33: 221-233.
6. Mamdoh, R., G. Najafian, G.H. Mirfakhrai and H. Dehghani. 2009. Evaluation of bread making quality of wheat using SDS sedimentation volume and high molecular weight glutenin subunits. Seed and Plant Improvement Journal, 25(3): 373-383.
7. Marchylo, B.A., O.M. Lukow and J.E. Kruger. 1992. Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats. Journal of Cereal Science, 15: 29-37.
8. Mirali, N., M.I.E. Arabi and B. Safadi. 1999. High molecular weight glutenin subunits composition of Syrian grown bread wheat and its relationships with gluten strength. Genetics and Breeding, 53: 237-245.
9. Najafian, G. and A. Baghaei. 2011. Genetic diversity of high molecular weight glutenin subunits in parental cultivars and strains of wheat used in Iran's cold and temperate breeding programs. Journal of Breeding Seedlings and Seeds, 1(27): 321-305 (In Persian).
10. Nicoservesht, R., G. Najafian, R. Mirfakhahi and H. Dehghani. 2008. SDS subunits Evaluation of Bread Quality of Bread Wheat Cultivars and Lines by Using Sediment Height Test, Journal of Seedling and Seed Bean Yeast, 25(3): 383-373 (In Persian).
11. Payne, P.I. and G.J. Lawrence. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. Cereal Research Communications, 12: 29-35.
12. Qorishi, P., S. Essello, M. Parsa and R. Ghaderi. 2014. The relationship between allelic composition of high molecular weight glutenin units with qualitative traits in some wheat cultivars. Cereal Research, 4(3): 192-209 (In Persian).
13. Rajabi Hashjin, M., M. Aghaei Sarabozha, M. Photokian and M. Mohammadi. 2013. Evaluation of Baking Quality Characteristics in Durum Wheat and Bread Genotypes. Journal of Agricultural Technology Biotechnology, 3(41): 41-33 (In Persian).
14. 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 science, 45(4): 1256-1263.
15. Rezaei, A.M. 2007. Relationship between high molecular weight glutenin subunits with qualitative flavor characteristics in recombinant lines of wheat. Agriculture and Natural Resources, 1(1): 19-29 (In Persian).
16. Saifi, M., J. Ahmadi and M.H. Photokian. 2012. The polymorphism of bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) in terms of grain micronutrients and heavy gluten units. Agronomy correction research, 7(15): 96-104 (In Persian).
17. Shewry, P.R., N.G. Halford and A.S. Tathan. 1992. High molecular weight subunits of wheat glutenin. Journal of Cereal Science, 15: 105-120.
18. Shewry, P.R., A.S. Tatham, F. Baro, P. Barcelo and P. Lazeri. 2002. Biotechnology of breadmaking: Unravelling and manipulating the multi-protein gluten complex. Biotechnology, 13: 1185-1190.
19. Van Den Broeck, H.C., A.H. America, M.J. Smulders, D. Bosch, R.J. Hamer, L.J. Gilissen and I.M. Van der Meer. 2009. A modified extraction protocol enables detection and quantification of celiac disease-related gluten proteins from wheat. Journal of Chromatography, 877(10): 975-982.
20. Yasmeen, F., H. Khurshid and A. Ghafoor. 2015. Genetic divergence for high-molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) in indigenous landraces and commercial cultivars of bread wheat of Pakistan. Genetics and Molecular Research, 14(2): 4829-4839.

Evaluate the Genetic Diversity of Quantity and Quality of Wheat in Relation to High Molecular Weight Glutenin Subunits

Maroof Khalili[1], Maryam Rostami Tehrani[2] and Mohammad Ali Ebrahimi[3]

1- Associate Professor Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, (Corresponding author: makhalily@yahoo.com)
2- Graduate of agricultural biotechnology Graduate of agricultural biotechnology, Payamme Noor University
3- Associate Professor Associate Professor, Department of Agriculture, Payamme Noor University
Received: January 23, 2018 Accepted: January 5, 2019

Abstract

In order to evaluate the genetic diversity of quantity and quality of wheat, 30 varieties and lines of wheat were evaluated by SDS-PAGE methode. The banding pattern of glutenin proteins extracted from seed indicated the presence of three subunits in the Glu-A1 gene site, four subunits at Glu-B1 and two subunits at the Glu-D1 site. In the Glu-A1 site, the alleles of the Null, in Glu-B1 site, sub units of 8 + 7 and 18 + 17 and in Glu-D1 site, subunits of 5 + 5 had a the heighest frequency. In this research, the genotypes of Zarin,Pishgham, Azar, Rasoul, Tous, 26 and 29 with genomic score of 10 were identified best genotypes in terms of baking quality. Based on regression analysis of data, allele 2^* of loci Glu-A1 explaned 43% of the changes in moisture content, Alleles 2^* of Glu-A1 and allele 10 + 5 of Glu-D1 loci justefied 52% of total seed protein variation. Allels 10 + 5 of Glu-D1 locus, allocated 43 percent of Zeleny number variation. Allele 8 + 7 of Glu-B1 locus, showed 40% of hardness variation. Finally alleles 16 + 13 of Glu-B1 locus justifed 38 percent of the starchcontent.

Keywords: Electrophoresis, Glutenin Subunits (HMW), SDS-PAGE, Wheat