Archive of SID

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

چند شکلی ارقام گندم نان (*Triticum aestivum* L.) از لحاظ ریزمغذی‌های دانه و زیر واحدهای سنگین گلوتنین

مینا صیفی[۱]، جعفر احمدی[۲] و محمدحسین فتوکیان[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)
۲- دانشیار، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، (نویسنده مسوول: njahmadi910@yahoo.com)
۳- دانشیار، دانشگاه شاهد

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱

چکیده

در این تحقیق سی و سه رقم و لاین گندم نان ایرانی از نظر تنوع ریزمغذی‌های آهن، روی، کلسیم، منیزیم، آمونیوم و کلر دانه و تنوع آللی زیرواحدهای سنگین گلوتنین در قالب طرح لاتیس ساده با دو تکرار در سال زراعی ۱۳۸۹ مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ همه صفات بجز میزان منیزیم و آمونیوم دانه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. ضرایب همبستگی فنوتیپی بین میزان روی با آهن، منیزیم و آمونیوم دانه و همچنین همبستگی بین میزان آهن با کلسیم، منیزیم و کلر دانه معنی‌دار و مثبت بود. تجزیه خوشه‌ای بر اساس میزان عناصر دانه ژنوتیپ‌ها را به سه گروه تفکیک نمود که بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین ارقام سپاهان و Line A و کم‌ترین فاصله ژنتیکی بین ارقام روشن و بزوستایا بود. در ارقام گندم نان مورد بررسی در مجموع ۱۴ ترکیب آللی و ۱۳ آلل تشخیص داده شد. میانگین کل امتیاز کیفیت گندم‌های نان بر اساس زیرواحدهای سنگین گلوتنین در دامنه ۵ تا ۱۰ بوده و اکثر ارقام امتیازی معادل ۶ داشتند. ۱۵ درصد از ژنوتیپ‌ها امتیاز بالای کیفیت یعنی ۸ تا ۱۰ را دارا بودند. بیش‌ترین فراوانی در مکان ژنی Glu-A1 مربوط به زیرواحد Null (۸۱/۸۱ درصد)، در مکان Glu-B1 مربوط به زیرواحد ۸+۷ (۴۸/۴ درصد) و در مکان Glu-D1 مربوط به زیرواحد ۱۲+۲ (۶۶/۶ درصد) بود. در رقم سرخ تخم در مکان ژنی Glu-D1 ترکیب آللی شبیه ۱۰+۲ مشاهده شد که به صورت *۱۰+۲/۱ نام‌گذاری شد. در بین ارقام مورد بررسی، رقم سایسون دارای بالاترین امتیاز (۱۰) و بعد از آن به ترتیب ارقام پیشگام (امتیاز ۹)، بهار و Line A (امتیاز ۸) از لحاظ کیفیت گلوتنین بودند. همچنین Line A هم دارای بیش‌ترین میزان آهن،کلسیم و منیزیم دانه و هم دارای امتیاز مطلوب ۸ از جهت کیفیت گلوتنین بود. بنابراین بسته به اهدف به‌نژادی می‌توان از این ارقام به‌عنوان والد در تلاقی‌ها استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: گندم، SDS-PAGE، آهن، روی، گلوتنین

مقدمه

گرسنگی پنهان، بروز عوارض ناشی از کمبود عناصر ریزمغذی در جیره غذایی می‌باشد. محصولات اصلی غذایی اغلب از نظر مقدار برخی از عناصر مهم در حدی غنی نیستند که نیازهای غذایی انسان را کاملاً برطرف نماید. بنابراین سوء تغذیه از مسائل عمده جهان به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. معمولاً در این کشورها تنوع در جیره غذایی برای اکثر مردم امکان پذیر نمی‌باشد و بنابراین بسیاری از مردم از کمبود بعضی از عناصر مهم غذایی رنج می‌برند. راهبردهای متعددی برای بهبود ارزش غذایی وجود دارد ولی با این وجود کمبود ریز مغذی‌های مهم مانند آهن و روی و دیگر ویتامین‌ها در جهان بسیار گسترده است و موجب نوعی گرسنگی تحت عنوان گرسنگی پنهان شده است. گندم از محصولات عمده غذایی برای درصد بالایی از مردم جهان می‌باشد، بنابراین حتی بهبود کم ارزش غذایی این محصول می‌تواند نقش بسیار مهمی در افزایش سلامت انسان و مقابله با گرسنگی پنهان داشته باشد (۹). بیش از ۵۰۰ میلیون نفر انسان کم‌خونی ناشی از کمبود آهن دارند و بسیاری از انسان‌ها کمبود آهن دارند درحالی که به کم‌خونی مبتلا نیستند (۶). در فرآیند انقلاب سبز نسبت به بهبود مواد ریزمغذی گندم توجه نشده و در عین حال ثابت شده است که برنامه غنی‌سازی مواد غذایی از طریق مکمل‌ها موثر واقع نشده است و راه حل مناسب فقط از طریق بهبود سیستم‌های کشاورزی امکان‌پذیر است. هم‌چنین تحقیقات نشان داده است که با استفاده از برنامه‌های اصلاح نباتات می‌توان به سطوح بالایی از عناصر آهن و روی دست یافت، بدون اینکه عملکرد کاهش یابد (۲۲). طبق بررسی‌ها کمبود آهن حدوداً سه میلیارد نفر را تحت تاثیر قرار داده است (۱۳). همچنین طبق برآورد ۴۹ درصد از مردم جهان در خطر کمبود روی هستند (۵). با تولید سالانه بیش از ده میلیون تن گندم، بالاترین پروتئین گیاهی که بالغ بر یک میلیون تن است در کشور فراهم می‌گردد. در نتیجه بالغ بر ۴۵٪ کالری مورد نیاز مردم کشور از گندم تامین می‌شود. با توجه به

www.SID.ir

Archive of SID

اهمیت گندم در تغذیه انسان لازم است همراه با افزایش عملکرد در بالا بردن کیفیت گندم هم اقداماتی انجام شود (۱۴). در ایران بیش از ۹۰ درصد گندم برای تهیه نان مصرف می‌شود ولی متأسفانه ۳۰ درصد ضایعات نان در کشور وجود دارد که ۳۳ درصد این ضایعات به علت پایین بودن کیفیت نانوایی ارقام مورد استفاده در تهیه نان می‌باشد (۱۷). یکی از صفات مورد توجه در اصلاح کیفی گندم، ارزش نانوایی آن است. ارزش نانوایی آرد به نوع پروتئین بستگی دارد. مقدار و نوع پروتئین عمدتاً تحت‌تأثیر اقلیم و مقدار نیتروژن مصرفی است. برعکس کیفیت پروتئین به میزان کم‌تری به محیط وابسته بوده و اساساً تحت کنترل ژنتیکی می‌باشد (۲۰). کیفیت نهایی نان معمولاً از طریق آزمایش استاندارد پخت تعیین می‌شود که به صرف وقت و هزینه زیاد نیاز دارد. ولی از معیارهای مختلفی به‌عنوان شاخص پیش‌بینی ارزش نانوایی گندم استفاده می‌شود که نسبتاً سریع وکم‌هزینه‌اند. مطالعات گسترده در سال‌های اخیر نشان داده که یکی از دلایل عمده در تمایز ارقام گندم از لحاظ ارزش نانوایی، نوع پروتئین آندوسپرم آنها است (۷). با معرفی نشانگرهای بیوشمیایی (پروتئین‌ها و آنزیم‌ها) و مولکولی ابزار جدیدی برای ارزیابی‌های دقیق و سریع منابع ژنتیکی گیاهان فراهم شده است (۱۱). در میان نشانگرهای پروتئینی، پروتئین‌های ذخیرهٔ بذر با سطح بالای تنوع در گونه‌های مختلف گندم کاربرد وسیعی در ارزیابی‌های مختلف ژنتیکی گندم پیدا کرده‌اند. پروتئین‌های ذخیره بذر شامل دو گروه از پروتئین‌ها شامل گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها هستند. یکی از ویژگی‌های مهم پروتئین‌های ذخیرهٔ بذر، نقش آن‌ها در تعیین کیفیت آرد و پخت نان و ماکارونی در ارقام گندم تجارتی است. امروزه به خوبی مشخص شده است که تنوع در میزان و نوع‌پروتئین‌های ذخیره بذر مسئول تفاوت‌های موجود در ارقام مختلف گندم‌های تجارتی از نظر کیفیت و خواص غذایی آرد است، بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی کیفیت گندم، از پروتئین‌های ذخیره بذر به‌عنوان یک شاخص کلیدی و ارزشمند استفاده می‌شود. ارتباط زیرواحدهای سنگین گلوتنین‌های با خواص تکنولوژیک آرد و پخت نان در گندم‌های هگزاپلوئید (*Triticum aestivum* L.) توسط محققین زیادی گزارش شده است (۲۰،۱). در سال‌های اخیر در ایران استفاده از پروتئین‌های ذخیره بذر به‌عنوان شاخص های ژنتیکی کیفیت آرد و پخت نان و ماکارونی در ارقام گندم تجارتی پیشنهاد و معمول شده است (۱۸). اگر چه تنوع موجود در صفات مربوط به کیفیت نانوایی (کیفیت تکنولوژیک) در گندم‌های نان و نیز کیفیت محصولات حاصل از گندم‌های دوروم به صورت صد در صد با استفاده از تنوع ژنتیکی پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه قابل توجیه و توصیف نیست، اما با توجه به رابطه قوی برخی از ترکیبات آللی، به خصوص در زیرواحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا، با صفات مهم کیفی می‌توان با انتخاب والدین دارای این ترکیبات با امتیاز کیفیت بالا در برنامه‌های دورگ‌گیری و به‌نژادی احتمال ایجاد نتاج با کیفیت نهایی مطلوب را افزایش داد. از این ابزار کمکی هم اکنون در برنامه‌های به‌نژادی گندم داخل کشور استفاده می‌شود (۱۸).

هدف از اجرای این تحقیق بررسی میزان تنوع ژنتیکی بین ارقام برای عناصر ریزمغذی مهم دانه و بررسی روابط بین این عناصر با یکدیگر و هم‌چنین تعیین تنوع الکتروفورزی زیرواحدهای سنگین گلوتنین در سه مکان ژنی Glu-A1، Glu-B1 و Glu-D1 در سی و سه ژنوتیپ گندم نان (تجارتی و بومی) موجود در کلکسیون بخش غلات موسسه تحقیقاتی تهیه نهال و بذر کرج و در نهایت شناسایی و توصیه ژنوتیپ‌های برتر برای استفاده به‌عنوان والدین با کیفیت مناسب در تلاقی‌ها در برنامه اصلاحی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق سی و سه رقم گندم نان موجود در کلکسیون بخش غلات موسسه تحقیقات تهیه نهال و بذر کرج در قالب طرح لاتیس ساده به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی مقدار عناصر ریزمغذی دانه و هم‌چنین تنوع آللی زیرواحدهای سنگین گلوتنین، در سال زراعی ۱۳۸۹ در دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد مطالعه شد. عملیات زراعی آماده‌سازی زمین قبل از کشت و نیز آزمون یکنواختی خاک برای عناصر آهن و روی انجام شد و نتایج نشان داد که توزیع این عناصر در خاک یکنواخت است. بذور ارقام در کرت‌های با دو خط، هر خط به طول ۲ متر و تراکم ۲۰×۱۰ سانتی‌متر کشت شد. آبیاری از ابتدای کاشت تا زمان برداشت با توجه به نیاز گیاه و شرایط آب و هوایی و کنترل علف‌های هرز توسط وجین با دست انجام گرفت. میزان عناصر آهن و روی دانه برحسب میکروگرم بر گرم ماده خشک به‌وسیله روش جذب اتمی شعله‌ای (۸) و میزان عناصر کلسیم، منیزیم، آمونیوم و کلر دانه نیز بر حسب میکروگرم بر گرم ماده خشک به وسیله دستگاه کروماتوگرافی یونی اندازه‌گیری شدند. جهت اندازه‌گیری آهن و روی، نمونه‌ها پس از آرد شدن به مقدار دو گرم با ۲۵ میلی‌لیتر از محلول استخراج (اسید نیتریک ۰/۱ نرمال + اسید سیتریک ۱۰٪) مخلوط و پس از ۴ ساعت شیکر در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و سپس توسط کاغذ صافی عبور داده شد. سپس دستگاه جذب اتمی توسط محلول های استاندارد کالیبره شده و معادله برازش مناسب

www.SID.ir

Archive of SID

برای برآورد میزان آهن و روی به دست آمد. هم‌چنین گندم‌های مورد مطالعه در این تحقیق، مورد بررسی الکتروفورزی برای تنوع آللی در مکان‌های ژنی Glu-1 (Glu-A1، Glu-B1 و Glu-D1) با روش SDS-PAGE قرار گرفتند. جهت استخراج پروتئین، پس از جدا کردن جنین، بذر له شده و با بافر استخراج شامل Tric-Hcl ۰/۱۲۵ مولار (pH=8.8)، گلیسرول ۱۰ درصد، سدیم دو دسیل سولفات (SDS) ۱۰ درصد، برومونفل ۰/۰۳ درصد و ۲- مرکاپتو اتانول ۵ درصد مخلوط شد. سپس نمونه‌ها به مدت دو دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سانتریفیوژ بمدت ۱۰ دقیقه با ۶۵۰۰ دور در دقیقه انجام شد. در نهایت نمونه‌ها با ژل SDS-PAGE بر اساس روش پاین و لاوارنس (۲۱) و با استفاده از ژل متراکم‌کننده (ترکیب اکریل آمید ۴ درصد، بیس اکریل آمید ۰/۰۳ درصد، سدیم دو دسیل سولفات ۱۰ درصد، Tric-Hcl ۰/۱۲۵ مولار) و ژل جداکننده (ترکیب اکریل آمید ۱۴ درصد، بیس اکریل آمید ۰/۰۳ درصد، تریس ۰/۱۲۵ مولار (pH = 8.8) و SDS ۱۰ درصد) مطالعه گردید. ژل‌ها با رنگ کوماسی بلو ۰/۱۳ درصد به مدت یک شبانه روز رنگ‌آمیزی و سپس با آب مقطر به مدت ۱۲ ساعت رنگ‌زدایی شدند. از ارقام امید، فلات و زرین به‌عنوان ارقام شاهد برای مقایسه جهت شناسایی زیرواحدهای سنگین گلوتنین استفاده گردید. برای آگاهی از اختلاط ارقام و دقت در تشخیص زیرواحدهای گلوتنین سنگین از هر نمونه دو تک دانه به‌صورت تصادفی انتخاب و برای استخراج پروتئین به‌صورت جداگانه مورد استفاده قرار گرفتند. مطابق با روش نام‌گذاری ارائه شده توسط پاین و لاورنس (۲۱) ژنوتیپ زیرواحدهای سنگین گلوتنین (HMW) و امتیاز کیفیت هر لاین بر اساس مجموع امتیازات مکان‌های ژنی سه گانه تعیین شد.

برای تمام صفات مورد مطالعه در قالب طرح لاتیس ساده تجزیه واریانس انجام گردید و مشخص شد که مقدار Eb در مورد میزان عناصر روی و آمونیوم دانه کوچک‌تر از Ee است (Eb واریانس بین بلوک‌ها و Ee واریانس خطای آزمایشی). بنابراین تجزیه واریانس دو عنصر روی و آمونیوم بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی صورت گرفت. پس از استخراج داده‌های آزمایش، تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم‌افزارهای MSTATC، SPSS و EXCEL انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس برای صفات مورد مطالعه در (جدول ۱) نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ میزان آهن، روی، کلسیم و کلر دانه اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) وجود دارد. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام شد. میانگین مقدار آهن دانه برابر ۳۱/۵۶ میکروگرم بر گرم بود (جدول ۲) که Line A با میانگین ۵۰/۵۶ و رقم پیشگام با میانگین ۲۴/۲۳ میکروگرم بر گرم به‌ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آهن دانه بودند. در مطالعه‌ای روی ارقام مختلف *Triticum dicoccoid* میانگین محتوای آهن دانه برابر ۴۱/۲۹ میکروگرم بر گرم و حداکثر و حداقل مقدار آن برابر ۱۲۰ و ۱۰/۳۲ میکروگرم بر گرم بود (۴). میانگین مقدار روی دانه برابر ۴۳/۴۶ میکروگرم بر گرم بود (جدول ۲) به نحوی که رقم نیک‌نژاد با میانگین ۶۲/۹۴ میکروگرم بر گرم بیش‌ترین و رقم آنفارم ۴ با میانگین ۲۸/۶۸ میکروگرم بر گرم کم‌ترین محتوای روی دانه را دارا بودند. در مورد میزان روی در ارقام مختلف *Triticum dicoccoid* میانگین ۷۶/۱۳ میکروگرم بر گرم و حداکثر و حداقل ۲۱۹/۶۷ و ۸/۳۸ میکروگرم بر گرم گزارش شده است (۴). میانگین میزان کلسیم برابر ۱۰۸/۱۲ میکروگرم بر گرم بوده (جدول ۲) و Line A با میانگین ۲۱۵/۲۶ میکروگرم بر گرم بیش‌ترین و رقم سبلان با میانگین ۳۸/۳۰ میکروگرم بر گرم کم‌ترین میزان کلسیم را دارا بودند. در این تحقیق مشاهده شد که Line A دارای بیش‌ترین میانگین از لحاظ میزان آهن (۵۰/۵۰ میکروگرم بر گرم)، کلسیم (۲۱۵/۲۶ میکرو گرم بر گرم) و آمونیوم دانه (۵۶۵/۸۸ میکرو گرم بر گرم) بوده و می‌تواند به عنوان رقمی با ظرفیت ژنتیکی بالا در جذب و ذخیره‌سازی این ریزمغذی‌ها معرفی شود. در توافق با نتایج حاصل از این تحقیق کاکماک و همکاران (۴) و ولچ و همکاران (۲۳) تنوع ژنتیکی بالایی را در میزان جذب و ذخیره‌سازی آهن و روی نشان دادند.

جدول ۱- تجزیه واریانس میزان ریزمغذی‌های دانه در ارقام گندم نان

منابع تغییر (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)				
		آهن دانه	منیزیم دانه	کلسیم دانه	کلر دانه	روی دانه	آمونیوم دانه
تکرار	۱	۳/۳۰	۲۷۵/۷۷	۵۹۲۱/۰۷	۵/۹۹	۱۴/۷۹	۲۵۳۴۷/۳۸
ژنوتیپ	۳۵	۷۷/۰۳۷*	۴۲۶۶/۶۹ns	۳۲۶۷/۴۷*	۲۶۴/۴۴*	۳۳۲/۶۰*	۱۴۸۵۲/۷۹ns
خطا	۲۵	۳۳/۶۴	۳۲۱۶/۰۶	۱۳۸۰/۸۳	۹۵/۱۳	۱۵۹/۲۲	۸۸۵۸/۱۲
ضریب تنوع فنوتیپی (٪)		۲۳/۵۶	۲۱/۶۹	۴۴/۵۸	۴۳/۱۸	۳۶/۰۷	۲۵/۱۴
ضریب تنوع ژنتیکی (٪)		۱۴/۷۵	۸/۱۲	۲۸/۴۰	۲۹/۶۳	۲۱/۴۱	۱۲/۶۴

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ns: غیرمعنی‌دار.

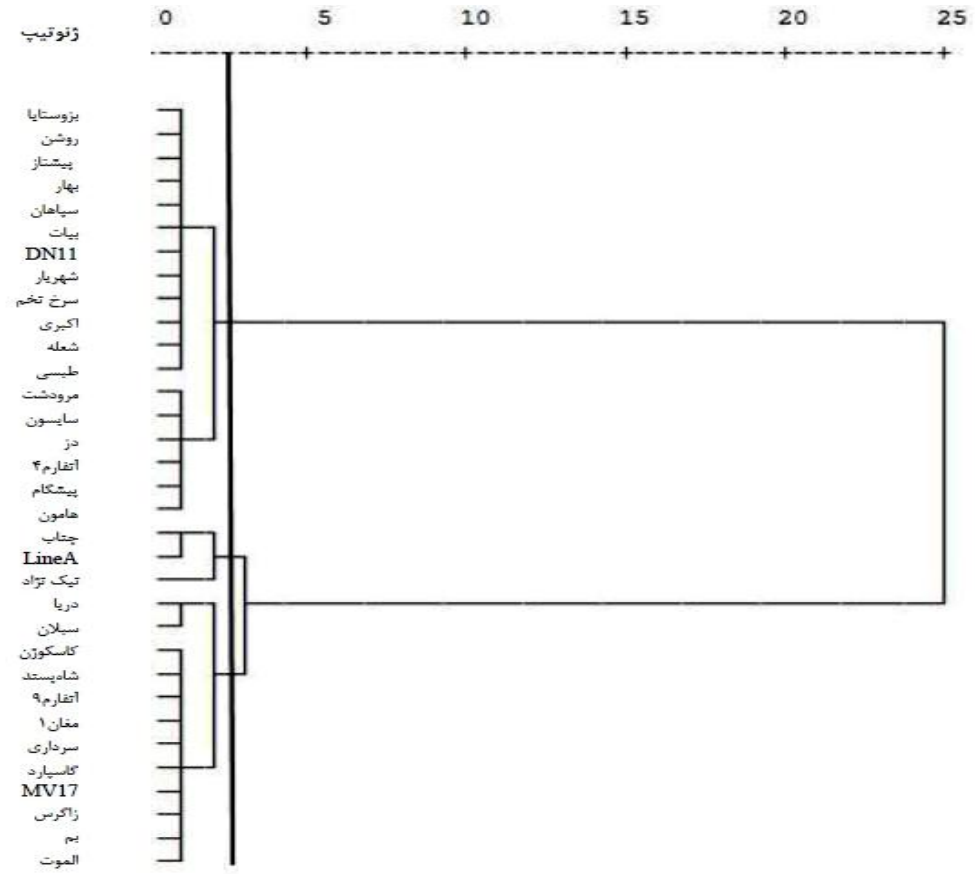
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- خصوصیات توصیفی صفات اندازه‌گیری شده در ارقام گندم نان

صفات	میانگین	حداکثر	حداقل	ضریب تغییرات (٪)
مقدار آهن دانه (میکروگرم بر گرم)	۳۱/۵۶	۵۰/۵۶	۲۴/۲۳	۱۹/۲۷
مقدار روی دانه (میکروگرم بر گرم)	۴۳/۴۶	۷۲/۰۴	۲۳/۱۸	۲۹/۰۳
مقدار کلسیم دانه (میکروگرم بر گرم)	۱۰۸/۱۲	۲۱۵/۳	۳۱/۲۱	۳۵/۲۷
مقدار منیزیم دانه (میکروگرم بر گرم)	۲۸۲/۰۰۴	۳۸۴/۶	۲۱۳/۳	۲۰/۳۸
مقدار آمونیوم دانه (میکروگرم بر گرم)	۴۳۲/۹۷	۵۶۵/۹	۳۲۴/۲	۲۱/۷۴
مقدار کلر دانه (میکروگرم بر گرم)	۳۱/۰۴	۶۲/۶۵	۱۲/۵۹	۳۵/۲۳

همبستگی فنوتیپی پیرسونی بین عناصر دانه (جدول ۳) نشان داد که بین میزان آهن و روی دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد (r=۰/۶۵) وجود دارد. در نتیجه می‌توان گفت که با هدف افزایش میزان آهن دانه به احتمال بالا میزان روی نیز افزایش خواهد یافت. مطابق نتایج این آزمایش، گزارشات قبلی نیز نشان‌دهنده وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان آهن و روی در دانه گندم بوده است (۱۶،۴). هم‌چنین بین میزان آهن با کلسیم، کلر و منیزیم دانه نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده گردید. رابطه بین میزان روی با منیزیم و آمونیوم در سطح احتمال ۱ درصد مثبت و معنی‌دار بدست آمد. در توافق با نتایج این آزمایش، پهلوان راد و همکاران (۱۹) نشان دادند که ضرایب همبستگی بین غلظت عناصر در دانه تقریباً بین همه عناصر مثبت و معنی‌داری بوده و همبستگی منفی بین عناصر دانه مشاهده نشد. این موضوع بیانگر این است که اصلاح با هدف افزایش غلظت یک عنصر در دانه، افزایش غلظت عناصر دیگر در دانه را نیز به دنبال خواهد داشت. نتایج تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها به روش حداقل وارد و با استفاده از مربع فاصله اقلیدسی، ۳۳ ژنوتیپ مورد مطالعه را با توجه به خط برش از فاصله ژنتیکی ۲/۵، در سه گروه قرار داد (شکل ۱).



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و ضریب مربع فاصله اقلیدسی برای ارقام گندم نام بر اساس میزان ریزمغذی‌های دانه

www.SID.ir

Archive of SID

برای اطمینان بیش‌تر از درستی انتخاب نقطه برش دندروگرام، از تابع تشخیص برای تعیین صحت محل برش استفاده شد و نتایج آن نشان داد که همه ژنوتیپ‌ها به گروه خود تعلق دارند (جدول ۴). برای تعیین دورترین و نزدیک‌ترین ژنوتیپ‌ها از لحاظ میزان عناصر دانه از مربع ضریب فاصله اقلیدسی استفاده گردید و معلوم شد که ژنوتیپ‌های سپاهان و Line A بیش‌ترین فاصله ژنتیکی و ارقام روشن و بزوستایا کم‌ترین فاصله ژنتیکی را از هم‌دیگر داشتند.

جدول ۳- ضرایب همبستگی فنوتیپی پیرسون بین عناصر دانه در ارقام گندم مورد مطالعه

صفت	کلر دانه	آمونیوم دانه	منیزیم دانه	کلسیم دانه	آهن دانه
روی دانه	۰/۰۳	۰/۷۰**	۰/۵۶**	۰/۲۳	۰/۶۵**
آهن دانه	۰/۴۴**	۰/۳۲	۰/۳۹*	۰/۴۴**	
کلسیم دانه	۰/۳۰	۰/۳۶*	۰/۳۴*		
منیزیم دانه	-۰/۰۰۹	۰/۶۶**			
آمونیوم دانه	-۰/۰۹				

جدول ۴- نتایج طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه تابع تشخیص

		اعضای پیش‌بینی شده برای گروه		
		۱	۲	۳
اعضای تعیین شده برای گروه‌ها بر اساس تجزیه خوشه‌ای	۱	۱۸	۰	۰
	۲	۰	۳	۰
	۳	۰	۰	۱۲

در جدول ۵ نام ژنوتیپ‌ها و نتایج مربوط به الکتروفورز نمونه‌های گندم نان مورد بررسی از طریق روش SDS-PAGE و ارزش محاسبه شده آللی برای هر ژنوتیپ بر اساس روش پاین آورده شده است. مطابق جدول رقم سایسون و گاسپارد (امتیاز ۱۰) دارای بیش‌ترین ارزش از نظر کیفیت گلوتنین و در نتیجه پخت نان بود و ارقام الموت، هامون و شهریار (امتیاز ۵) دارای کم‌ترین ارزش کیفی از نظر پخت نان بودند. همان‌طور که از (جدول ۵) مشاهده می‌شود، ۴۰ درصد کل نمونه‌ها (۱۳ ژنوتیپ) از مجموع ۳۳ ژنوتیپ گندم نان مورد بررسی با ترکیب آللی Null، ۷+۸، ۲+۱۲ در مکان ژنی Glu-A1، Glu-B1 و Glu-D1 در یک گروه قرار گرفتند که از نظر ارزش کیفی آل‌ها امتیازی معادل ۶ را داشتند.

همان‌طور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود در مکان ژنی *Glu*-A1 در ارقام مورد بررسی زیرواحدهای ۲*، Null و ۱ به ترتیب با فراوانی نسبی ۱۲/۱، ۸۱/۸ و ۶ درصد مشاهده گردید که نشان می‌دهد آلل Null که دارای اثرات منفی روی کیفیت خمیر است، بیش‌ترین فراوانی را در این مکان ژنی دارد. با توجه با این که زیرواحدهای ۱ و ۲* تأثیر مثبتی روی کیفیت آرد گندم دارند، لذا حضور این زیرواحدها در ارقام مورد بررسی یک امتیاز مهم است. در ارتباط با این موضوع بهتر است ژنوتیپ‌هایی به‌عنوان والد در نظر گرفته شوند که در این مکان ژنی یکی از دو آلل ۱ یا ۲* را داشته باشند. برتری آلل ۱ و ۲* نسبت به آلل نول در تحقیقات زیادی گزارش شده است (۱۸،۱۰). در مطالعه ۴۰۰ گندم نان از کشورهای مختلف زیرواحد Null در کانادا، آمریکا و پاکستان حضور نداشته و در کشورهای استرالیا، اوکراین، روسیه و قزاقزستان فراوانی ۹٪ یا کم‌تر را نشان داده است (۳).

در مکان ژنی *Glu*-B1 در نمونه‌های گندم نان مورد بررسی زیرواحد ۷+۸ دارای فراوانی ۴۸/۴درصد، زیرواحد ۱۷+۱۸ و ۱۳+۱۶ به ترتیب با فراوانی‌های ۹/۰۹ و ۳/۰۳ درصد مشاهده شدند که مجموعاً ۶۰/۵۲ درصد ژنوتیپ‌ها را شامل می‌شوند. ترکیب آللی ۷+۹ با امتیاز کیفیت ۲ در ۳۰/۳ درصد از ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. ترکیب ۶+۸ و همچنین زیرواحد ۲۰ که همبستگی منفی با استحکام خمیر دارد و هر دو دارای امتیاز ۱ هستند هر کدام در ۳/۰۳ درصد از ژنوتیپ‌ها دیده شد. در مجموع ۶/۰۶ درصد از ژنوتیپ‌ها آلل‌های با ارزش ضعیف کیفیت (۲۰ و ۶+۸) در ژنوم B نشان دادند که توصیه می‌شود در صورت وجود ژنوتیپ جایگزین برای صفات دیگر، برای دورگ‌گیری از آن‌ها استفاده نشود. برتری ترکیبات ۱۷+۱۸، ۱۳+۱۶ و ۷+۸ در گزارش‌های قبلی مورد تأکید قرار گرفته است و با توجه به اینکه این زیرواحدها تأثیر مثبتی بر کیفیت نانوایی دارد، وجود آن را می‌توان مزیتی در بین ارقام مورد بررسی تلقی کرد و بهتر است در انتخاب والدین برای یک برنامه تلاقی، ژنوتیپ‌هایی در نظر گرفته شوند که این ترکیبات را در ژنوم خود داشته باشند (۱۰).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- ژنوتیپ زیرواحدهای گلوتنین سنگین، امتیازهای آللی و ژنومی لاین‌ها و ارقام گندم نان

No.	ارقام	مکان ژنی Gene locus			امتیاز آللی	امتیاز ژنوم
		Glu-A1	*Glu-B1*	*Glu-D1*		
۱	الموت	Null	۷+۹	۲+۱۲	۱+۲+۲	۵
۲	نیک نژاد	Null	۷+۹	۵+۱۰	۱+۲+۴	۷
۳	کاسکوژن	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۴	گاسپارد	۱	۷+۸ / ۶+۸	۵+۱۰	۴+(۱ یا ۳)+۳	۱۰/۸
۵	هامون	Null	۷+۹	۲+۱۲	۱+۲+۲	۵
۶	بزوستایا	Null	۷+۹	۵+۱۰	۱+۲+۴	۷
۷	پیشتاز	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۸	سبلان	Null	۱۴+۱۵	۵+۱۰	۱+۲+۴	۷
۹	بیات	Null	۱۷+۱۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۱۰	سرداری	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۱۱	پیشگام	۱	۷+۹	۵+۱۰	۳+۲+۴	۹
۱۲	بم	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۱۳	زاگرس	Null	۱۳+۱۶	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۱۴	مغان۱	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۱۵	شعله	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۱۶	طبسی	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۱۷	شهریار	Null	۷+۹	۲+۱۲	۱+۲+۲	۵
۱۸	چناب	Null	۲۰	۵+۱۰	۱+۱+۴	۶
۱۹	شاهپسند	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۲۰	مرودشت	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۲۱	سپاهان	Null	۱۷+۱۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۲۲	ساسیون	۲*	۷+۸	۵+۱۰	۳+۳+۴	۱۰
۲۳	Line A	Null	۱۷+۱۸	۵+۱۰	۱+۳+۴	۸
۲۴	سرخ تخم	Null	۷+۸	۲/۱+۱۰*	۱+۳+nd	-
۲۵	روشن	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۲۶	دریا	۲*	۷+۹	۲+۱۲	۳+۲+۲	۷
۲۷	MV17	۲*	۷+۹	۲+۱۲	۳+۲+۲	۷
۲۸	آنفارم ۴	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۲۹	آنفارم ۹	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۳۰	اکبری	Null	۷+۸	۲+۱۲	۱+۳+۲	۶
۳۱	DN11	Null	۷+۹	۵+۱۰	۱+۲+۴	۷
۳۲	دز	Null	۷+۹	۵+۱۰	۱+۲+۴	۷
۳۳	بهار	۲*	۷+۸	۲+۱۲	۳+۳+۲	۸

جدول ۶- فراوانی نسبی زیرواحدهای مکان ژنی Glu-1 در ارقام گندم نان

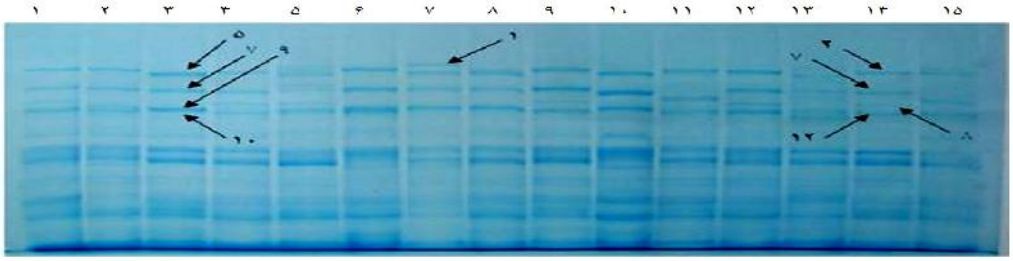
	Gene locus										
	Glu-A1			*Glu*-B1						*Glu*-D1	
آلل	۲*	Null	۱	۷+۹	۷+۸	۶+۸	۱۴+۱۵	۱۷+۱۸	۱۳+۱۶	۲۰	۵+۱۰	۲+۱۲	۲/۱+۱۰*
تعداد	۴	۲۷	۲	۱۰	۱۶	۱	۱	۳	۱	۱	۱۰	۲۲	۱
فراوانی (٪)	۱۲/۱	۸۱/۸	۶/۰۶	۳۰/۳	۴۸/۴	۳/۰۳	۳/۰۳	۹/۰۹	۳/۰۳	۳/۰۳	۳۰/۳	۶۶/۶	۳/۰۳

در مکان ژنی *Glu*-D1 زیرواحد ۲+۱۲ با بیش‌ترین فراوانی مشاهده گردید و زیرواحد۱۰+۵ حدود ۳۰ درصد از آلل‌های این مکان ژنی را شامل شد. میرالی و همکاران (۱۵) در بررسی ارتباط بین زیرواحدهای سنگین گلوتنین و استحکام گلوتن مشاهده کردند که جایگاه ژنی *Glu*-D1 مهم‌ترین مکان ژنی است که در آن زیرواحد ۱۰+۵ دارای ارزش بالا در این ارتباط است. در خصوص نقش مکان ژنی *Glu*-D1 به‌خصوص برتری ترکیب آللی ۱۰+۵ نسبت به ۲+۱۲ گزارش‌های زیادی وجود دارد. با توجه به ملاحظه فراوانی بیش‌تر ترکیب ۲+۱۲ نسبت به ۱۰+۵ در بین ارقام مورد مطالعه و با توجه به این که ترکیب ۲+۱۲ با کیفیت ضعیف‌تر همبستگی دارد (۱۸) و با در نظر گرفتن نقش بیشتر و موثرتر ژنوم D در کیفیت نانوایی، باید در انتخاب لاین‌های والدینی برای ایجاد جوامع اصلاحی دقت کرد و حتی الامکان ژنوتیپ‌هایی را که دارای ترکیب ۱۰+۵ هستند، برگزید. در کانادا کلیه لاین‌های به‌نژادی بر اساس حضور جفت زیر واحد ۱۰+۵ انتخاب شده و فراوانی برابر ۹۵٪ در مقابل ۵٪ زیر واحد ۲+۱۲ در آنها گزارش شده است. هم‌چنین ۸۵٪ گندم‌های آمریکا شامل زیر واحدهای ۱۰+۵ هستند. در اوکراین، روسیه و قزاقستان وضعیت متفاوت بوده و فراوانی زیر واحد های ۱۰+۵، بین ۴۶٪ تا ۵۵٪ و ۲+۱۲ بین ۴۱٪ تا ۵۴٪ گزارش شده است (۳). در این آزمایش در مکان ژنی D ترکیب آللی ۲/۱+۱۰* با فراوانی ۳ درصد در یک نمونه (رقم سرخ تخم) مشاهده شد. این ترکیب آللی از

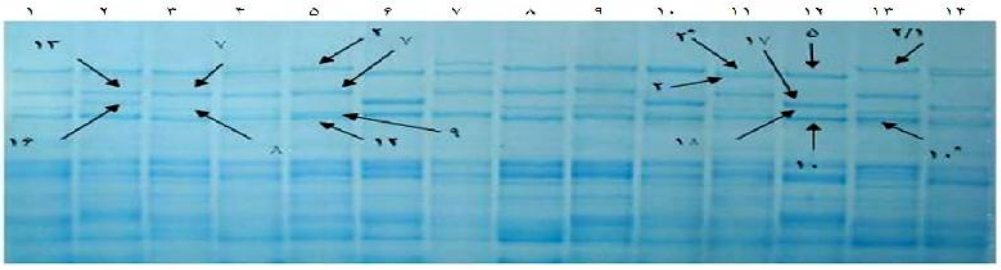
www.SID.ir

Archive of SID

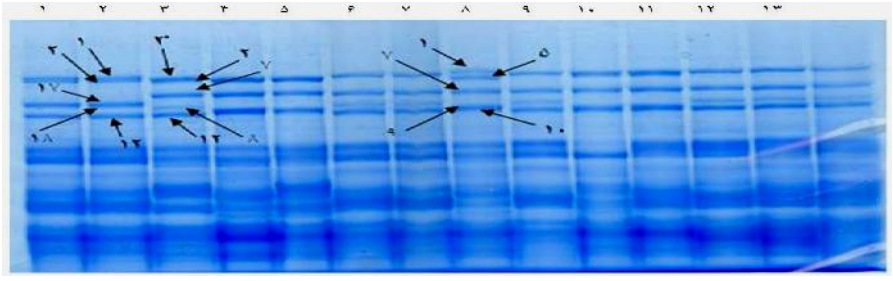
ترکیبات نادری است که در گندم‌های ایران و افغانستان مشاهده شده است. این ترکیب آللی از نظر حرکت نسبی در ژل الکتروفورز ۱۰٪ رفتاری شبیه ۱۰+۲ دارد (تحرک نسبی زیر واحد Dx این ترکیب کمی کندتر از زیر واحد Dx-2 و زیر واحد Dy آن کندتر از زیر واحد Dy-10 است). این ترکیب توسط نجفیان (۱۷) در رقم سرخ تخم مشاهده و در بررسی موضوع با مشخص کردن آن با نام *۱۰+۲/۱ همانند آللی قلمداد شد که لاگودا و همکاران (۱۲) در گندم‌های افغانستان مشاهده کردند. در این تحقیق نیز مجدداً با همان نام مشخص شد. این ترکیب آللی توسط بحرایی و همکاران (۲) با نام *۲+۱۲' گزارش شده است. به دلیل عدم مطالعه این باند برای تأثیر آن در ارتقاء کیفیت، امتیاز آللی آن مشخص نیست. وجود این ترکیب در ارقام سرخ تخم و کویر در گزارش‌های دیگر مورد اشاره قرار گرفته است (۱۸). شکل ۲ ژل‌های مربوط به الگوی الکتروفورزی زیرواحدهای گلوتنین سنگین را نشان می‌دهد.



۱- امید، ۲- الموت، ۳- نیک نژاد، ۴- کاسکوژن، ۵- گاسپارد، ۶- هامون،۷- فلات، ۸- بزوستایا، ۹- پیشتاز، ۱۰- سبلان، ۱۱- بیات، ۱۲- سرداری، ۱۳- پیشگام، ۱۴- بم، ۱۵- زرین



۱- امید، ۲- زاگرس، ۳- مغان۱، ۴- طبسی، ۵- شهریار، ۶- چناب، ۷- شاهپسند، ۸- مرودشت، ۹- سپاهان،۱۰- سایسون، ۱۱- LineA، ۱۲- سرخ تخم، ۱۳- زرین



۱- زرین، ۲- بهار، ۳- دز، ۴- DN11، ۵- اکبری، ۶- آنفارم ۹، ۷- فلات، ۸- آنفارم ۴، ۹- MV-17، ۱۰- دریا، ۱۱- روشن، ۱۲- شعله، ۱۳- امید

شکل ۲ - الگوی الکتروفورزی زیرواحدهای گلوتنین سنگین با روش SDS-PAGE روی ژل ۱۰٪ در تعدادی از ارقام گندم نان در کنار ارقام شاهد (زرین، فلات و امید).

در جمع‌بندی کلی برای پیشنهاد لاین یا ارقام برتر هر گروه (بدست آمده از کلاستر ارقام بر اساس ریزمغذی‌ها) از نظر ژنوتیپ زیر واحد گلوتنین به‌منظور استفاده در دورگ‌گیری می‌توان به صورت زیر پیشنهاداتی انجام داد:

در گروه اول (شکل ۱) رقم سایسون دارای بالاترین امتیاز (۱۰) از لحاظ کیفیت گلوتنین بوده و بعد از آن به ترتیب ارقام پیشگام (امتیاز ۹) و بهار (امتیاز ۸) قرارگرفتند. لذا از بین این گروه، ارقام نامبرده قابل توصیه می‌باشند. بدیهی است که در انتخاب یک لاین والدینی باید مجموعه صفات مختلف در نظر گرفته شود. در این گروه رقم DN-11 دارای بیش‌ترین میانگین کلر دانه (۶۲/۶۵ میکرو گرم) بود، اما از لحاظ کیفیت گلوتنین امتیاز مطلوبی (۷) را نداشت. در گروه دوم

www.SID.ir

Archive of SID

Line A هم دارای بیش‌ترین میزان آهن، کلسیم و منیزیم دانه و هم دارای امتیاز تقریبا مطلوب ۸ از جهت کیفیت گلوتنین می‌باشد. بنابراین از این لاین می‌توان به‌عنوان والدی مناسب جهت دورگ‌گیری در یک برنامه تلاقی استفاده کرد که از لحاظ محتوای آهن دانه و کیفیت آرد گندم مطلوب باشد. رقم نیک‌نژاد در این گروه دارای بالاترین میانگین روی دانه (۷۲/۰۴ میکروگرم بر گرم) بود اما امتیاز مناسبی (۷) از لحاظ کیفیت آرد گندم نداشت. در گروه سوم رقم گاسپارد دارای امتیاز بالای کیفیت گلوتنین بوده و در این گروه رقم الموت دارای بیش‌ترین میانگین منیزیم دانه (۳۸۴/۵۶ میکرو گرم بر گرم) می‌باشد ولی از لحاظ امتیاز کیفی جز ارقام با کم‌ترین امتیاز (۵) بود. در نتیجه بسته به اینکه هدف اصلاحگر کدام یک از ویژگی‌های ذکر شده باشد، باید در انتخاب این ارقام به عنوان والد مورد استفاده در تلاقی دقت شود.

منابع

1. Ahmad, M., W.B. Griffin and K.H. Sutton. 1998. Quantification of glutenin and their relationship with technological properties. Heredity, 116: 315-322.
2. Bahraei, S., B. Pirayeshfar, R.V. Joukar and B. Tajasob. 2001. Relation of seed storage proteins with flour, quality and wheat genetic diversity in Iranian wheat landraces. Final Research Report, Seed and Plant Improvement Institute, 148 pp. Karaj, Iran. (In Persian)
3. Bushauk, W. 1997. Wheat breeding for end product use. In: wheat: prospect for global improvements. Developments in plant breeding, 6: 203-211. The Netherland: Kluwer Academic Publishers.
4. Cakmak, I., A. Torun, E. Millet, M. Feldman, T. Fahima, A. Korol, E. Nevo and H.J. Braun. 2005. Inheritance of seed zinc accumulation in navy bean. Crop Science, 45: 864-870.
5. Cichy, K.A., F. Shana, L. Kenneth and L. George. 2005. Inheritance of seed zinc accumulation in navy bean. Crop Science, 45: 864-870.
6. Craig, W.J. 1994. Iron status of vegetarians. American Journal of Clinical Nutrition, 59: 1233-1237.
7. Gerami, B. 1993. Utility method of electrophoresis in breeding of wheat. Key Papers of the First Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding, 243-269 pp, Tehran, Iran. (In Persian)
8. Gupta, P.K. 2000. Soil, plant, water and fertilizer analysis. Agrobios, New Delhi, India. 438 pp.
9. Hagparast, R., R. Rajabi, J. Gaderi and H. Filitabar. 2009. Combating with hidden hunger using Genetic modification of consumed Cereals. Regional Conference on Food and Biotechnology. Islamic Azad University of Kermanshah, 121-123 pp, Kermanshah, Iran. (In Persian)
10. Hagparast, R., Z. Rajabi, G. Najafian and M. Agaei. 2009. Study of indices associated with grain quality variation in bread wheat genotypes under irrigated conditions. Journal of Seed and Plant Improvement, 25(1): 315-328. (In Persian)
11. Lafiandra, D., M. Ciaffi and S. Benedettelli. 1993. Seed storage proteins of wild grown wheat varieties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 40: 51-65.
12. Laguda, E.S., R.G. Flood and G.M. Halloran. 1987. Variation in high molecular weight glutenin subunits in landraces of wheat from Afghanistan. Euphytica, 36: 3-9.
13. Long, J.K., B. Marianne and E.S. Margaret. 2004. Diallel analysis of grain iron and zinc density in southern-African adapted maize hybrids. Crop Science, 44: 2021-2026.
14. Malakoti, J. 2000. Balanced nutrition of wheat: the way to self-sufficiency and health supplies. Publications of Education and Agricultural Research Organization, Tehran, Iran, 538 pp. (In Persian)
15. 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.
16. Morgounov, A., H.F. Gomez-Becerra, A. Abugalieva, M. Dzhunusova, M. Yessimbekova, H. Muminjanov, Y. Zelenskiy, L. Ozturk and I. Cakmak. 2007. Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia. Euphytica, 155: 193-203.
17. Najafian, G. 1994. The relationship of high molecular weight glutenin subunits with wheat baking quality in Iranian wheat through electrophoresis techniques. M.Sc. Thesis, Tehran University.Tehran, Iran. 208 pp. (In Persian)
18. Nikoseresht, R., G. Najafian, R.G. Mirfakhraei and H. Dehgani. 2009. Evaluation of baking quality in wheat varieties and lines using SDS sedimentation test and heavy glutenin subunits. Journal of Seed and Plant Improvement, 1(25): 373-383.
19. Pahlevanrad, M.R., Kh. Kikha and M.R. Naroueirad. 2008. Effect of zinc, iron and magnesium on yield, yield components, concentrations and nutrient uptake in wheat grain. Research and Development, 79: 141-150.
20. Payne, P.I. 1987. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on beard making quality Annual review of plant physiology, 38: 141-153.
21. Payne, P.I. and G.J. Lawrence. 1983. Catalogue of alleles for the complex loci, *Glu*-A1, *Glu*-B1 and *Glu*-D1 which code for HMW subunits of glutenin hexaploid wheat. Cereal Research Communications, 11: 29-35.
22. Welch, R.M. and R.D. Graham. 2002. Breeding crops for enhanced micronutrient content. Plant and Soil, 245: 205-214.
23. Welch, R.M., W.A. House, I. Monasterio and Z. Cheng. 2005. Potential for improving bioavailable zinc in wheat grain through plant breeding. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 2176-2180.

www.SID.ir

Archive of SID

Polymorphism of High Molecular Glutenin Subunits and Seed Micronutrients in Bread Wheat Cultivars

Mina Seyfi[1], Jafar Ahmadi[2] and Mohammad Hossein Fotokian[3]

1- M.Sc. Student, Imam Khomeini International University, Qazvin
2- Associate Professor, Imam Khomeini International University, Qazvin (Corresponding author: njahmadi910@yahoo.com)
3- Associate Professor, University of Shahed Tehran
Received: October 2, 2012 Accepted: February 19, 2013

Abstract

In this research to investigate the variation of iron, zinc, calcium, magnesium, ammonium and chloride micronutrient and glutenin subunits allele variation, 33 wheat cultivars and lines were studied in lattice design with two replications during 2011 cropping season. The results of ANOVA showed significance differences among genotypes for all traits with except for seed magnesium and ammonium content. Simple correlation coefficients between seed zinc content with seed iron, ammonium and magnesium content and also correlations between seed iron content with the amount of seed calcium, magnesium and chloride were positive and significant. Cluster analysis based on seed micronutrients grouped the genotypes into three clusters with the highest genetic distance between Sepahan and Line A and the lowest genetic distance between Roshan and Bezostaya. In total, 14 allele combinations and 13 alleles were detected in bread wheat. The Glu-1 loci scores ranged from 5-10, with an average of 6. Fifteen percent of the genotypes had high scores from 8 to 10. The highest frequency at locus Glu-A1 was for subunit Null (81.81%), in Glu-B1 for subunit 7 +8 (48.4%) and in Glu-D1 for subunit 2+12 (66.6 %) respectively. In Sorkhtokhm variety the allelic composition at Glu-D1 locus was similar to 2+10 and was named 2/1+10*. Among the cultivars, Saysvn had the highest score (10) for glutenin quality and followed by Pishgam (score 9), Bahar and LineA (score 8). Also line A had the highest amount of iron, calcium and magnesium as well as favorite glutenin quality with scores 8. Consequently, these cultivars could be selected as the parent in crosses depending on breeding goals.

Keywords: Glutenin, Iron, SDS-PAGE, Wheat, Zinc

www.SID.ir