مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۳، شماره ۳، سال ۱۳۸۱ (۵۴۲-۵۳۵)

تعیین رابطه زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد با کیفیت نانوایی از طریق الکتروفورز

بهزاد صادق‌زاده[۱]، محمدرضا قنادها[۲]، پریچهره احمدیان تهرانی[۳]، سیروس عبد میشانی[۴]
و بدرالدین ابراهیم سید طباطبائی[۵]
۱، ۲، ۳، ٤، ۵، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار، استادان و استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش ۸۰/۱۲/۱

خلاصه

میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر نقش مهمی در ایجاد خصوصیات مطلوب نانوایی دارد. ولی علاوه بر مقدار، نوع پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر نیز می‌تواند در کیفیت نانوایی مؤثر باشد. در همین راستا و به منظور مطالعه دقیق رابطه بین زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد (HMW-GS) و ارزش نانوایی، تعداد ۱۰۷ نمونه از لاین‌های پیشرفته گندم دیم بررسی گردید. برای تفکیک زیرواحدهای گلوتنین از تکنیک الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (SDS-PAGE) استفاده شد و در نهایت ۱۲ زیرواحد در سه مکان ژنی *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* شناسایی گردید. در چهار تا از لاین‌ها زیرواحدهای ۸+*۷ شناسایی گردید که زیرواحد *۷ به عنوان یک نوار جدید از تحرک نسبی بیشتری نسبت به زیرواحد ۷ برخوردار بود. برای بررسی دقیق‌تر نقش مکان ژنی *Glu-B1*، نمونه‌هایی که از لحاظ زیر واحدهای موجود در *Glu-A1* و *Glu-D1*یکسان ولی از نظر زیرواحدهای موجود در *Glu-B1* تفاوت داشتند، تجزیه و تحلیل شدند. ضمناً ارزش نانوایی نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از آزمایش حجم رسوب با SDS تعیین گردید. نتایج نشان داد که مکان ژنی *Glu-A1* و *Glu-D1* روی ارتفاع رسوب با SDS تاثیر معنی‌داری دارند. برای صفت مذکور زیرواحدهای ۱۰+۵ از مکان ژنی *Glu-D1* و *۲ مکان ژنی *Glu-A1* از سایر زیرواحدها موثرتر بوده و ضریب همبستگی مثبت ومعنی‌داری با ارتفاع رسوب داشتند. در تجزیه رگرسیون گام به گام نیز معلوم شد که به ترتیب زیرواحدهای ۱۰+۵، ۸+۷ و ۱۸+۱۷ وارد مدل شده و در مجموع، ۳۹ درصد تغییرات در ارتفاع رسوب را توجیه می‌کنند. نتایج بررسی دقیق‌تر مکان ژنی *Glu-B1* نیز نشان داد که زیر واحدهای ۱۸+۱۷ و ۸+*۷ این مکان ژنی بیشترین تاثیر را روی ارتفاع رسوب داشته و ضریب همبستگی مثبت و معنی‌داری را با ارتفاع رسوب دارند.

واژه‌های کلیدی: گندم نان، کیفیت نانوایی، زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد

مقدمه

غلات در تغذیه انسان بیشترین اهمیت را داشته و در بین غلات، گندم نان[۱] از اهمیت خاصی برخوردار است. 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 (۱).

ارزش نانوایی صفت پیچیده‌ای بوده و فاکتورهای مختلفی از جمله کمیت و کیفیت پروتئین در آن دخیل است و کیفیت پروتئین آندوسپرم بیشتر تحت تاثیر عوامل ژنتیکی است. مطالعات گسترده طی ۲۰ سال گذشته نشان داده که یکی از دلایل عمده در تمایز ارقام گندم از لحاظ ارزش نانوایی «نوع پروتئین» آندوسپرم و نه «میزان پروتئین» آنهاست. در میان اجزاء سازنده پروتئین‌های ذخیره‌ای نقش زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد (HMW-GS)[۲] در ایجاد خصوصیات

مکاتبه کننده: بهزاد صادق‌زاده

1 . *Triticum aestivum* L.

2 . High Molecular Weight Glutenin Subunits

مطلوب نانوایی چشمگیرتر از سایر اجزاست، لذا ژنوتیپ‌های اصلاحی بایستی به کمک الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای از نظر این زیرواحدها شناسایی شوند (۲).

شوری و همکاران (۱۹۸۶) پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم را بر اساس وزن مولکولی شان به سه گروه تقسیم کردند که شامل پروتئین‌های با وزن مولکولی زیاد (معادل اجزاء گلوتنین با وزن مولکولی زیاد)، پرولامین‌های با گوگرد کم (معادل گلیادین امگا) و پرولامین‌های با گوگرد زیاد (معادل گلیادین‌های آلفا، بتا و گاما) و اجزاء گلوتنین با وزن مولکولی کم (LMW-GS)[1].

گلوتن اصلی‌ترین پروتئین ذخیره‌ای آندوسپرم شامل ۸۰ درصد پروتئین (گلوتنین و گلیادین)، ۸ درصد چربی و بقیه مواد معدنی و کربوهیدرات است. گلوتن به دلیل اعطای خاصیت ویسکوالاستیک به خمیر که شرط اساسی در بهبود کیفیت نان است بسیار مورد توجه می‌باشد (۹).

گلیادین‌ها شامل گروهی از پروتئین‌ها با وزن مولکولی ۳۲-۷۲ کیلودالتون هستند و موقعی که با آب مخلوط می‌شوند حالت چسبنده می‌یابند. گلوتنین‌ها گروه ناهمگنی از پروتئین‌ها هستند که وزن مولکولی‌شان از صد هزار تا چند میلیون دالتون است. گلوتنین‌ها به صورت پلیمرهایی که توسط پیوندهای دی سولفیدی بین زنجیره‌ای به هم متصل شده‌اند، مشاهده می‌گردند و به خمیر خاصیت کشسانی می‌دهند (۲۳). گلوتنین‌ها تحت شرایط غیر احیاء به صورت توده‌های هتروژن بوده و به کمک مواد احیاء کننده نظیر بتامرکاپتواتانل[2] و انجام الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید همراه با SDS (SDS-PAGE)[3] به دو گروه گلوتنین‌های با وزن مولکولی زیاد (HMW) و کم (LMW) تفکیک می‌شوند (۳).

ژن‌های کد کننده زیرواحدهای گلوتنین HMW روی بازوی بلند کروموزوم‌های 1D, 1B, 1A قرار دارند. این مکان‌های ژنی به صورت *Glu-1* نشان داده شده و هر یک شامل دو ژن خیلی نزدیک به هم به نام‌های *Glu-1-1* و *Glu-1-2* می‌باشند که به ترتیب زیرواحدهای تیپ x و y را بر حسب وزن مولکولی کد می‌کنند. مطالعات جدید ۸ آلل برای مکان ژنی *Glu-A1*، ۱۱ آلل برای *Glu-B1* و ۹ آلل برای *Glu-D1* شناسایی کرده است.

ژن تیپ y موجود در مکان ژنی *Glu-A1* معمولاً تظاهر نیافته و خاموش است و گاهی هر دو ژن تیپ x و y مکان ژنی *Glu-A1* تظاهر نیافته که در این حالت الل نول را خواهیم داشت. در *Glu-B1* اغلب هر دو ژن بیان می‌شوند، ولی در *Glu-D1* همیشه هر دو ژن بیان می‌شوند. لذا در گندم هگزاپلوئید ۵-۳ جزء (اصطلاحاً نوار) در قسمت گلوتنین‌های HMW دیده می‌شود (۵).

پاین و همکاران (۱۹۸۱) به کمک آزمایش رسوب با SDS[4] روی گندم گزارش کرده‌اند که زیر واحدهای ۱۰+۵ مکان ژنی *Glu-D1* و زیر واحد ۱ مکان *Glu-A1* حجم رسوب بالاتری نسبت به آللهای مقابل خود یعنی ۱۲+۲ و نول دارند. برانلارد و داردیوت (۱۹۸۵) در مقایسه واریته‌های مختلف گندم بیان کردند که زیر واحدهای *۲، ۹+۷ و ۱۰+۵ با قدرت و ارتجاعیت گلوتن همبستگی مثبت دارند، همچنین قابلیت توسعه خمیر همبستگی مثبت با زیرواحدهای ۱، ۱۶+۱۳ و ۱۸+۱۷ دارد. پاین و همکاران (۱۹۸۷) گزارش کردند که الل نول مکان ژنی *Glu-A1* اثر منفی و معنی‌داری روی کیفیت آرد دارد. گوپتا و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کردند که تاثیر HMW-GS روی پارامترهای استحکام خمیر بیش از LMW-GS است چرا که HMW-GS پلی‌مرهای بزرگتری ایجاد می‌کنند. ماچون و همکاران (۱۹۹۵) عنوان کردند که زیرواحدهای ۱۸-۱۷ مکان ژنی *Glu-B1* در سطوح بالای پروتئین ارتفاع رسوب بالاتری نسبت به زیرواحدهای ۸+۷ دارند.

مواد و روشها

مواد گیاهی: در این تحقیق ۱۰۷ لاین پیشرفته گندم نان متعلق به مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه مورد استفاده واقع شد. آزمایشگاه‌های بیوتکنولوژی و ارزش نانوایی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران محل انجام آزمایش‌ها و سال اجرای آزمایش ۷۸-۱۳۷۷ بود.

الکتروفورز: برای تعیین نوع زیرواحدهای گلوتنین HMW انجام الکتروفورز با استفاده از روش SDS-PAGE با غلظت‌های ۷/۵، ۱۰ و ۱۲ درصد آکریل‌آمید طبق روش لایملی (۱۹۷۰) که توسط فولینگتن و همکاران (۱۹۸۳) اصلاح گردیده صورت

1. Low Molecular Weight Glutenin Subunits
2. β- Mercaptoehanol
3. Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
4. SDS- Sedimentation

جدول ۱- نوع و فراوانی زیرواحدهای گلوتنین HMW در لاین‌های مورد مطالعه

مکان ژنی	Glu-A1			Glu-B1						Glu-D1	
نوع باند	نول	۲*	۱	۷+۹	۷+۸	۱۷+۱۸	۱٤+۱۵	۷	۷*+۸	۱۳+۱٦	۵+۱۰	۲+۱۲
فراوانی	٤٤	۳٤	۲۹	۵۱	۱۹	۱٦	۸	٦	٤	۳	۷۵	۳۲
فراوانی نسبی	۰/٤۱	۰/۳۲	۰/۲۷	۰/٤۸	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۰۸	۰/۰٦	۰/۰٤	۰/۰۳	۰/۷	۰/۳

گرفت. در مواقع لزوم از ژل ۷/۵ درصد برای تفکیک نوارهای ۲ و *۲ و ژل ۱۲ درصد برای تفکیک نوارهای ۹ و ۱۰ استفاده گردید.

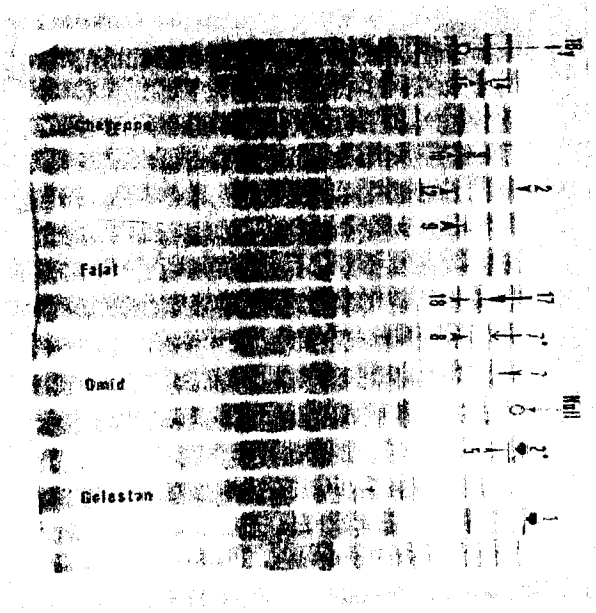
آزمایش ارتفاع رسوب با SDS : برای انجام این آزمایش از روش کوئیک و دانلی (۱۹۸۰) استفاده گردید. ابتدا از هر نمونه به کمک آسیاب UDY آرد تهیه شده و ۶ گرم داخل سیلندرهای ۱۰۰ml ریخته می‌شود، سپس ۵۰ml آب مقطر به سیلندر اضافه شده و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت به هم زده می‌شود بعد سیلندر ۴ دقیقه با حرکات شیکر مخلوط گردیده سپس ۵۰ml از محلول SDS دو درصد که به آن به ازای هر ۵۰ میلی‌لیتر ۱ میلی‌لیتر از محلول اسید لاکتیک ۸۵٪ + آب مقطر (به نسبت ۱ به ۸) اضافه گردیده بود، به سیلندر اضافه شده و ۴ مرتبه با سر و ته کردن سیلندر مخلوط می‌گردد و این کار در مدت ۶ دقیقه ۳ بار به فاصله هر ۲ دقیقه یک بار تکرار می‌گردد، پس از آخرین سر و ته کردن، سیلندر در یک سطح صاف قرار گرفته وبعد از ۱۰ دقیقه ارتفاع رسوب تشکیل شده قرائت می‌گردد.

روشهای آماری: برای محاسبه تنوع ژنتیکی از فرمول پیشنهادی نی (۱۹۷۸) استفاده گردید. برای بررسی اثر مکان‌های ژنی گلوتنین روی ارتفاع رسوب از PROC GLM، برای بررسی همبستگی ساده بین زیرواحدها و صفت ارتفاع رسوب از PROC CORR و برای تجزیه رگرسیون گام به گام از PROC REG نرم‌افزار SAS استفاده شد ضمناً مقادیر β (شیب خط) نسبت به اشتباه استاندارد (S.E.) با استفاده از آزمون T، تست شده‌اند و هر جا که مقدار β از ۲ برابر S.E. مربوطه بزرگتر بود معنی‌دار تلقی گردید. تجزیه کلاستر با استفاده از ماتریس ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA با نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که در میان ۳ آلل مکان ژنی *Glu-A1*، الل نول بیشترین فراوانی را داشته و در میان ۷ آلل *Glu-B1* زیرواحدهای ۷+۹ بالاترین فراوانی و زیرواحدهای ۱۳+۱۶ کمترین فراوانی را داشتند. زیرواحدهای ۵+۱۰ مکان ژنی *Glu-D1* با فراوانی نسبی ۰/۷ بالاترین فراوانی را در میان کل زیرواحدها داشتند که این زیرواحدهای بیشترین تاثیر را روی کیفیت آرد دارند (جدول ۱). بررسی تنوع ژنتیکی نشان داد که میزان تنوع برای *Glu-A1*، *Glu-B1* و *Glu-D1* به ترتیب ۶۵/۰، ۰/۷ و ۰/۴۱ بود و میانگین تنوع ژنتیکی نیز ۰/۵۹ می‌باشد.

نکته قابل توجه در مکان ژنی *Glu-B1* عدم بیان جزء 1By در برخی از لاین‌ها بود که در این حالت نوار شماره ۷ به تنهایی دیده می‌شود، عدم مشاهده این جزء می‌تواند احتمالاً به دلیل حذف یا عدم بیان ژن کد کننده این زیرواحد باشد (۲۱). در این مکان ژنی همچنین در برخی از لاین‌ها زیرواحدهای ۸+*۷ مشاهده گردید که تحرک نسبی نوار *۷ اندکی بیش از نوار ۷ می‌باشد این نوار قبلاً نیز توسط مارچیلو و همکاران (۱۹۹۲) گزارش شده بود (شکل ۱).



شکل ۱- انواع باندهای مشاهده شده گلوتنین با وزن مولکولی زیاد به روش SDS-PAGE

بررسی تاثیر زیرواحدهای گلوتنین HMW روی ارتفاع رسوب نشان داد که مکان ژنی *Glu-A1* روی ارتفاع رسوب اثر معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ داشته که با نتایج منصور و همکاران (۱۹۹۰) مطابقت دارد. تأثیر *Glu-B1* روی صفت مزبور غیر معنی‌دار بود که با نتایج پاین و همکاران (۱۹۸۷) و راجرز و همکاران (۱۹۹۱) مطابقت دارد. مکان ژنی *Glu-D1* روی صفت رسوب در سطح احتمال ۱٪ تاثیر معنی‌داری داشت که نتایج گوپتا و همکاران (۱۹۹۴) و راجرز و همکاران (۱۹۹۱) نیز این را تایید می‌کنند. ضمناً اثرات متقابل مکان‌های ژنی غیر معنی‌دار بودند (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مکانهای ژنی Glu-1 برای ارتفاع رسوب

منابع تغییر	میانگین مربعات (MS)	F
Glu-A1	۴۶۵/۵۲	۸/۹۲**
Glu-B1	۵۹/۶۸	۱/۱۴
Glu-D1	۱۶۰۸/۲۴	۳۰/۸۳**
Glu-A1*Glu-B1	۱۸/۲۷	۰/۳۵
Glu-A1*Glu-D1	۰/۸۹	۰/۰۲
Glu-B1*Glu-D1	۲/۱۵	۰/۰۴

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ CV=٪۱۲/۱

مقایسه میانگین ارتفاع رسوب مکان‌های ژنی به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان داد که زیرواحدهای ۱ و *۲ مکان ژنی *Glu-A1* نسبت به الل نول میانگین بالاتری داشته و در گروه a قرار گرفته‌اند (جدول ۳). در *Glu-B1* زیرواحدهای ۱۷+۱۸ با بیشترین میانگین در گروه a قرار گرفته‌اند (جدول۴). در Glu-D1 نیز زیرواحدهای ۵+۱۰ بیشترین میانگین را داشته و در گروه a جای گرفته‌اند (جدول ۵).

جدول ۳- نتایج آزمون دانکن بر روی آلل‌های مکان ژنی *Glu-A1*

گروه	میانگین	الل
a	۶۲/۱	*۲
a	۶۲/۰	۱
B	۵۵/۴۰	نول

نتایج همبستگی ساده زیرواحدها با ارتفاع رسوب نشان داد که زیرواحد *۲ مکان ژنی *Glu-A1* با ارتفاع رسوب همبستگی مثبت و معنی‌داری (r=۰/۲) در سطح احتمال ۵٪ دارد همچنین الل نول همبستگی منفی و معنی‌داری (r=-۰/۳۶) در سطح احتمال ۱٪ با صفت مزبور نشان داد. در مکان ژنی *Glu-D1* زیرواحدهای ۵+۱۰ بالاترین همبستگی مثبت و معنی‌دار (r=۰/۵۲) را در سطح احتمال ۱٪ با صفت ارتفاع رسوب دارا بودند (جدول ۶).

جدول ۴- نتایج آزمون دانکن بر روی آلل‌های مکان ژنی *Glu-B1*

گروه	میانگین	الل
a	۶۲/۲	۱۷+۱۸
ab	۶۰/۳	۷+۸
ab	۵۹/۵	۷+۹
b	۵۴/۷	۱۴+۱۵

جدول ۵- نتایج آزمون دانکن بر روی آلل‌های مکان ژنی *Glu-D1*

گروه	میانگین	الل
a	۶۲/۲	۵+۱۰
b	۵۲/۲	۲+۱۲

با توجه به نتایج تجزیه رگرسیون مشاهده می‌شود که در اولین گام زیرواحدهای ۵+۱۰ وارد مدل رگرسیون شده و طبق ضریب تبیین (R^2) جزئی این زیرواحدها به تنهایی ۲۶/۶ درصد تغییرات در ارتفاع رسوب را توجیه می‌کنند و در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. در گام دوم زیرواحدهای ۷+۸ مکان ژنی *Glu-B1* وارد مدل گردیده که ۶/۱ درصد تغییرات را توجیه کرده و در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار است. ضریب تبیین مدل نیز نشان می‌دهد ۳۹ درصد تغییرات در ارتفاع رسوب به وسیله این مدل قابل توجیه است (جدول ۷). با توجه به ضریب تبیین مدل می‌توان نتیجه گرفت که علاوه بر زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا، فاکتورهای دیگر نیز روی ارتفاع رسوب تاثیر دارند که این عوامل می‌توانند ژنتیکی یا محیطی باشند که در گزارشهای پاین و همکاران (۱۹۸۸) و لوکوز (۱۹۹۵) این موضوع مورد تاکید واقع شده است.

بررسی دقیق‌تر اثر مکان ژنی *Glu-B1* روی ارتفاع رسوب

به منظور بررسی دقیق‌تر نقش زیرواحدهای گلوتنین HMW مکان ژنی *Glu-B1* روی ارتفاع رسوب، لاین‌هایی که از نظر زیرواحدهای موجود در *Glu-A1* و *Glu-D1* یکسان ولی از

جدول ۶- همبستگی ساده زیر واحدهای گلوتنین HMW با ارتفاع رسوب

ارتفاع رسوب	۲+۱۲	۵+۱۰	۷+۹	۱۷+۱۸	۱۴+۱۵	۷+۸	نول	۲*	الل
۰/۱۶	-۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۰۲	۰/۲۷**	-۰/۱۱	-۰/۲۱	-۰/۴۷**	-۰/۴۷**	۱
۰/۲۰*	-۰/۲۷**	۰/۲۷**	۰/۲۴**	-۰/۱۰	-۰/۲۳*	-۰/۰۴	-۰/۵۵**		۲*
-۰/۳۶**	۰/۴۲**	-۰/۴۱**	-۰/۲۶*	-۰/۱۶	-۰/۳۳**	۰/۲۴**			نول
۰/۰۳	۰/۳۹**	-۰/۳۹**	-۰/۵۵**	-۰/۲۳**	-۰/۱۵				۷+۸
-۰/۱۴	-۰/۰۹	۰/۰۹	-۰/۳۳**	-۰/۱۴					۱۴+۱۵
۰/۱۳	-۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	-۰/۴۹**						۱۷+۱۸
-۰/۰۴	۰/۲۷**	-۰/۲۷**							۷+۹
۰/۵۲**	-۱								۵+۱۰
-۰/۵۲**									۲+۱۲

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

جدول ۷- نتایج رگرسیون گام به گام برای صفت ارتفاع رسوب

F	R^2 مدل	R^2 جزئی	S.E.	β	متغیر	
۳۳/۰۱**	۰/۲۶۶۲	۰/۲۶۶۲	۱/۹۲۲	۱۱/۳۴۱	۵+۱۰	Glu-D1
۸/۱۷**	۰/۳۲۷۳	۰/۰۶۱۰	۱/۹۶۷	۷/۰۳۳	۷+۸	Glu-B1
۵/۶۷*	۰/۳۶۷۶	۰/۰۴۰۳	۱/۹۵۸	۴/۰۹۳	۱۷+۱۸	Glu-B1
۳/۴۵	۰/۳۹۱۵	۰/۰۲۳۹	۱/۶۴۴	-۳/۰۵۶	نول	Glu-A1

* و ** : به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

نظر زیرواحدهای موجود در *Glu-B1* متفاوت بودند، انتخاب و تجزیه و تحلیل شدند (۲۳ لاین).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نقش مکان ژنی *Glu-B1* روی صفت ارتفاع رسوب در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار است که با نتایج منصور و همکاران (۱۹۹۰) مطابقت دارد. برای تشخیص بهتر اثرات الل‌های *Glu-B1* روی صفت مزبور، مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام گرفت. نتایج نشان داد که زیرواحدهای ۱۸+۱۷ بیشترین میانگین را داشته که با نتایج پاین و همکاران (۱۹۸۷) و لورنس و همکاران (۱۹۸۸) مطابقت دارد. همچنین زیرواحدهای ۸+۷ و ۸+۷* در گروه ab قرار گرفتند. کمترین تاثیر نیز مربوط به زیرواحدهای ۹+۷ و ۷ بود که در گروه b جای گرفتند.

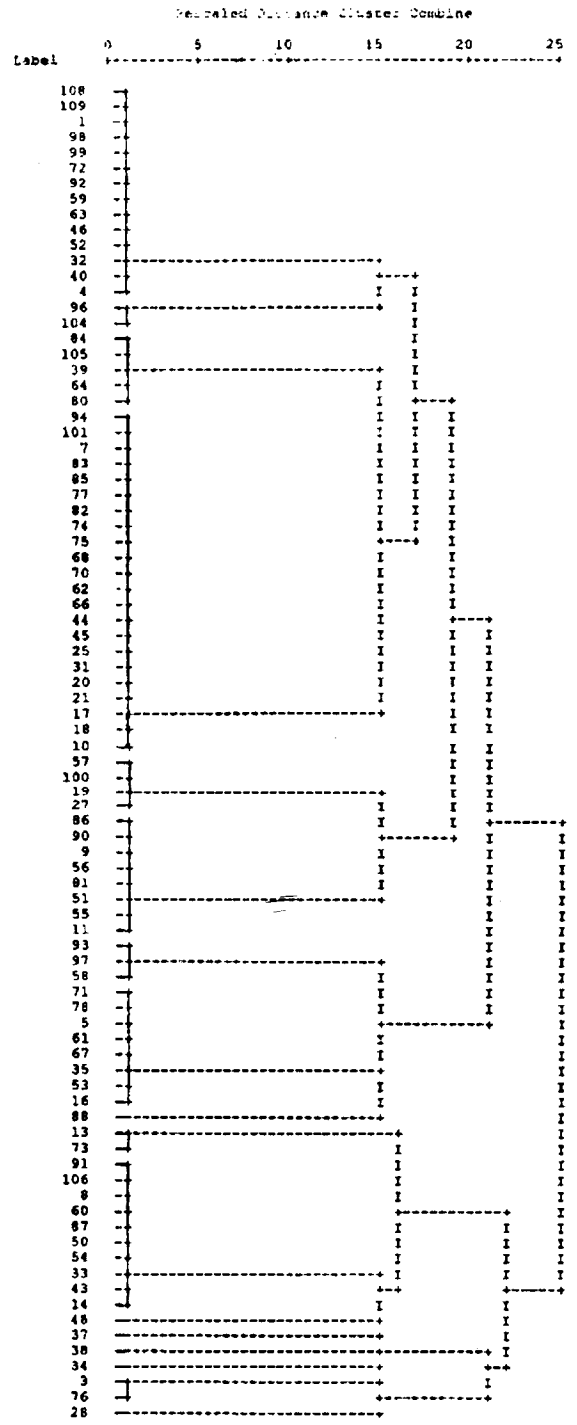
نتایج تجزیه همبستگی ساده بین زیرواحدها با ارتفاع رسوب نشان داد که ضریب همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ بین زیرواحدهای ۱۸+۱۷ و ۸+۷* با صفت مزبور وجود دارد (جدول ۸).

جدول ۸- همبستگی ساده زیرواحدهای Glu-B1 با ارتفاع رسوب

ارتفاع رسوب	۷	۹+۷	۱۸+۱۷	۸+۷	الل
۰/۴۶*	-۰/۱۸	-۰/۲۱	-۰/۱۴	-۰/۴۰	۸+۷*
۰/۱۷	-۰/۳۴	-۰/۴۰	-۰/۲۷		۸+۷
۰/۴۷*	-۰/۱۲	-۰/۱۴			۱۸+۱۷
-۰/۳۰	-۰/۱۸				۹+۷
-۰/۲۸					۷

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪

نتایج تجزیه رگرسیون نشان داد که در اولین گام زیرواحدهای ۱۸+۱۷ وارد مدل رگرسیون شده که بر اساس ضریب تبیین جزیی این زیرواحدها به تنهایی ۲۴/۳ درصد



شکل ۲- دندروگرام تجزیه کلاستر بر اساس روش جاکارد

تغییرات ارتفاع رسوب را توجیه می‌کنند. در گام دوم زیرواحدهای ۸+*۷ وارد مدل گردیده نه ۲۱ درصد تغییرات را به تنهایی توجیه می‌نماید.

دندروگرام تجزیه کلاستر (شکل ۲) نشان داد که تقریباً در فاصله ژنتیکی ۱۶، هفت گروه وجود خواهد داشت. در گروه اول ۱۶ ژنوتیپ جای گرفته که دارای زیرواحد ۱ در *Glu-A1* و زیرواحدهای ۵+۱۰ در *Glu-D1* و زیرواحدهای ۷+۹ و ۷+۸ در *Glu-B1* هستند. در گروه دوم ۲۷ ژنوتیپ قرار گرفته که دارای زیرواحدهای *۲ در *Glu-A1*، ۵+۱۰ در *Glu-D1* و زیرواحدهای ۷+۹ و ۷+۸ در *Glu-B1* هستند. گروه سوم شامل ۱۲ ژنوتیپ است که دارای الل نول در *Glu-A1*، ۷+۹ در *Glu-B1* و در *Glu-D1* ۵+۱۰ و ۲+۱۲ را دارند. در گروه چهارم نیز ۱۲ ژنوتیپ قرار گرفته که در *Glu-B1* و *Glu-D1* زیرواحدهای یکسان ولی در *Glu-A1* تفاوت داشتند بقیه گروه‌ها نیز به ترتیب شامل ۱۳، ۳ و ۳ ژنوتیپ بودند (شکل ۲).

به طور کلی در مورد تاثیر نوارها می‌توان گفت که زیرواحد *۲ از مکان ژنی *Glu-A1*، زیرواحدهای ۱۸+۱۷ از *Glu-B1* و ۵+۱۰ از *Glu-D1* در افزایش ارتفاع رسوب برتر از سایر واحدها بودند و می‌توانند در برنامه‌های اصلاح کیفیت مورد توجه قرار گیرند. ضمناً اثرات مکان‌های ژنی *Glu-1* روی ارتفاع رسوب معنی‌دار بوده و نقش هر یک از آنها را در افزایش ارتفاع رسوب می‌توان به صورت *Glu-D1>Glu-A1>Glu-B1* نشان داد که در تحقیقات زیادی به آن صحه گذاشته شده است. نتایج تجزیه رگرسیون در این تحقیق نشان داد که بهتر است از گلوتنین‌های HMW به تنهایی به عنوان شاخص تعیین ارزش نانوایی استفاده نشود. ضریب تبیین مدل نشان داد که گلوتنین‌های HMW تنها ۳۹ درصد تغییرات در ارتفاع رسوب را توجیه کرده و ۶۱ درصد تغییرات به عوامل دیگری بستگی دارد، لذا بهتر است در مطالعات آینده، درصد پروتئین، گلوتنین‌های LMW و گلیادین‌ها نیز به عنوان متغیرهای موثر در ارزش نانوایی مورد بررسی قرار گیرند.

مراجع مورد استفاده

REFERENCES

۱. اداره کل آمار و اطلاعات. ۱۳۷۷. غلات در آیینه آمار ۶۷/۷۶. وزارت کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و بودجه، تهران.

۲. نجفیان، گ. ۱۳۷۳. تعیین رابطه زیرواحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا با کیفیت نانوایی گندم‌های کشت شده در ایران از طریق تکنیک الکتروفورز. پایان نامه فوق‌لیسانس،دانشگاه تهران.

3. Bean, S. R. & G. L. Lookhart. 1998. Influence of salts and aggregation of gluten proteins on reduction and extraction of high molecular weight glutenin subunits of wheat. Cereal Chem. 75(1): 75-79.

4. Branlard, G. & M. Dardivet. 1985. Diversity of protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. Cereal Sci. 3: 345-354.
5. Bushak, W. & V. F. Rasper. 1996. Wheat: Production, Properties and Quality. Blackie academic and professional. An. Imprint off chapmann and Hall. London.
6. Fullington, J. G., E. W. Cole & D. D. Kasarda. 1983. SDS-PAGE of total proteins from different wheat varieties. Effect of protein content. Cereal Chem.. 60: 65-71.
7. Gupta, R. B., I. L. Batey & F. MacRitchie. 1992. Relationship between protein composition and functional properties of wheat flours. Cereal Chem. 69(2): 125-131.
8. Gupta, R. B., J. G. Paul, G. B. Cornish, G. A. Palmer, F. Bekes & A. J. Rathien. 1994. Allelic variation of glutenin subunit and gliadin loci Glu-1, Glu-3 and Gli-1 of common wheat. I. Its additive and interaction effects on dough properties, Cereal Sci. 19: 9-17.
9. Hoseney, R. C. 1986. Principles of cereal science and technology. AACC. Inc. Minesota. USA. PP. 69-88.
10. Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the hard of the bacteriophage T4. Nature., 227: 680-685.
11. Lawerence, G. J., F. MacRitchie & C. W. Wrigley. 1988. Dough and baking quality of wheat lines deficient in glutenin subunits controlled by the Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1 loci. Cereal Sci. 7: 109-112.
12. Luquez, J. 1995. Relationships between high molecular weight subunit glutenin and alveographic parameters of breadmaking quality in bread wheat. Revista-de-la-Facultad-de-Agronomia-La-Plata. 71(1): 53-60.
13. Machuan, X. I., X. Feng & T. Yunzhi. 1995. Effects of high molecular weight subunits 17+18 of glutenin on bread making quality in progenesis from a bread wheat. Acta Agronomy Sinica. 21: 90-94.
14. Mansur, L. M., C. O. Qualset, D. D. Kasrda & R. Morris. 1990. Effects of cheynne chromosomes on milling and backing quality in Chinese spring wheat in relation to glutenin and gliadin storage proteins. Crop Sci. 30: 593-602.
15. Marchylo, B. A., O. M. Ludow & J. E. Kruger. 1992. Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats. Cereal Sci. 15: 29-37.
16. Nei, M. 1978. Estimation of the average heterozgosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 89: 583-590.
17. Payne, P. I., L. M. Holt & C. N. Law. 1981. Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin. Theor. Appl. Genet. 60: 226-236.
18. Payne, P. I., S. J. A. Seeking, A. E. Worland, M. G. Jarvis & L. M. Holt. 1987. Allelic variation of glutenin subunits and gliadin and its effect on breadmaking quality in wheat analysis of F5 progeny from Chinese spring. Cereal Sci. 4: 103-111.
19. Payne, P. I., L. M. Hort., A. T. Krattiger & J. M. Carriollo. 1988. Relationship between HMW glutenin subunit composition and measured of breadmaking quality of wheat varieties grown in spain. Cereal Sci. 7: 229-236.
20. Quick, J. S. & B. I. Donnelly. 1980. A rapid test for estimation of durum wheat gluten quality. Crop Sci. 20: 816-818.
21. Redelli, R., P. K. W. Ng & N. E. Pogna. 1997. Allelic variation of the storage protein of 55 Us-grown white wheats. Plant Breeding. 116: 426-436.
22. Rogers, W. J., P. L. Payen, J. A. Seeking & E. J. Sayers. 1991. Effects on breadmaking quality of x-type and y-type high molecular weight subunits of glutenin. Cereal Sci. 14: 209-221.
23. Shewry, P. R., A. S. Tatham & J. Forde . 1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. Cereal Sci. 4. 94-106.

Determination of Relationship Between HMW-GS and Wheat Baking Quality through Electrophoresis

B. SADEGHZADEH[1], M.R. GHANNADHA[2], P. AHMADIAN TEHRANI[3], S. ABDMISHANI[4] AND B.E. SEIED TABATABAEI[5]

1, 2, 3, 4, 5, Former Graduate Student, Associate professor, Professors and Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran

Accepted Feb. 20, 2002

SUMMARY

Baking quality depends on seed protein content as well as kind of protein. In order to investigate the relationship between high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) and baking quality, 107 wheat advanced lines were evaluated using SDS-PAGE. Twelve subunits were found in Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 loci. In 4 lines out of 12, subunits 7*+8 were found, in which subunit 7* was a new band with more mobility in comparison with subunit 7. To investigate the effect of Glu-B1 locus on baking quality, those lines that had identical subunits in Glu-A1 and Glu-D1 loci but differed in Glu-B1 locus were chosen, their baking quality being evaluated by SDS-Sediment. The results of ANOVA showed that Glu-A1 and Glu-D1 loci had significant effects on SDS-Sediment. The subunits 5+10 and 2* of Glu-D1 and Glu-A1, respectively, were more effective than others of these loci on SDS-Sediment and had positive significant correlation with this trait. Stepwise regression analysis revealed that the subunits 5+10, 7+8 and 17+18 can justify 39% of variation in SDS-Sediment. The subunits 17+18 and 7*+8 of Glu-B1 locus had the most effects on SDS-Sediment which had positive significant correlation with this trait.

Key words: *Triticum aestivum L.*, Baking quality, HMW-GS.