بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

ارزیابی صفات مرتبط با کیفیت در برخی ارقام گندم بهاره با استفاده از صفات زراعی و نشانگرهای پروتئینی

اساتید راهنما:
دکتر محمد صدقی
دکتر امید سفالیان

اساتید مشاور:
دکتر مجید شکرپور
مهندس اسماعیل زادحسن

توسط:
سعید بارانی

دانشگاه محقق اردبیلی
بهمن ۱۳۸۹

تقدیم به پر عشق ترین انسان‌های
زندگیم
به پدر و مادر مهربانم
که همیشه سنگری محکم در برابر
مشکلات و پایه‌هایی استوار در برابر
حوادث برایم ساختند
و پلی بودند روبه روی بهترین‌ها و
خواهر و برادران خوبم که
همراهیشان باعث استواری گام‌هایم
می‌شوند.

تقدیر و تشکر

ای معبودم

تو را به خاطر الطاف بیکرانت و نعمات بی‌کرانت می‌ستایم که هر آنچه هست از آن توست والاترین سپاس ها از آن توست که سعادت تحصیل علم و لذت خدمت به خلق را نصیبم کردی.

((هوالعلیم))

سپاس بیکران ایزد منان را که در پرتو لایزالش توفیق آموختن میسر گردید. رحمت واسعه‌اش فرصتی مغتنم داد تا از محضر اساتید گرانقدر و دوستان ارجمند بهره جویم. بر خود لازم می‌دانم مراتب تقدیر و تشکر را از همه عزیزانی که مرا در تهیه این پایان نامه مساعدت نمده‌اند، اعلام نماییم. از آقایان دکتر محمد صدقی و دکتر امید سفالیان که سمت استاد راهنمای مرا به عهده داشتند، تکوین این مجموعه را میسر ساخت تشکر می کنم.

از آقایان دکتر مجید شکرپور و مهندس اسماعیل زادحسن اساتید مشاورم که در تهیه و تدوین این پایان نامه مرا یاری نمودند تشکر میکنم.

از همه دوستان خوبم که در تمام مراحل انجام تا تدوین این پایان نامه بنده را یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنم.

در این رهنمود، این پایان نامه را که خود آغازی است برای طی مسیر پر فراز و نشیب زندگانی و کاری و تحصیلی من، به شما دو گوهر یگانه زندگیم که همچون دو بال پرواز و ارتقاء برای من بوده و هستید تقدیر می دارم. با آرزوی این که افتخار داشته باشم به لطف ایزد منان حاصل تلاش خود را در مراحل بالاتر نیز به شما تقدیر کنم. همچنین، در خاتمه از زحمات بیکران برادران و خواهر عزیزم کمال تشکر و قدردانی می نمایم. در پایان از شما تقاضا می کنم با دیده مهربان اغماض بر کاستی های اثرحاضر بنگرید، چرا که چنین اغماضی تنها شایسته پدران و مادران است.

نام خانوادگی: **بارانی** نام: **سعید**

عنوان: **ارزیابی صفات مرتبط با کیفیت در برخی ارقام گندم بهاره با استفاده از صفات زراعی و نشانگرهای پروتئینی**

اساتید راهنما: **دکتر محمد صدقی – دکتر امید سفالیان**

اساتید مشاور: **دکتر مجید شکرپور – مهندس اسماعیل زادحسن**

مقطع تحصیلی: **کارشناسی ارشد** رشته: **مهندسی کشاورزی** گرایش: **علوم و تکنولوژی بذر**

دانشگاه: **محقق اردبیلی** دانشکده: **کشاورزی** تاریخ فارغ التحصیلی: **۱۳۸۹/۱۱/۱۹** تعداد صفحه:۱۰۸

واژه‌های کلیدی: ارقام گندم، پروتئین‌های ذخیره‌ای، صفات فنولوژیک، صفات مورفولوژیک

چکیده

به منظور ارزیابی صفات زراعی مرتبط با کیفیت در برخی از ارقام بهاره با استفاده از صفات زراعی و نشانگرهای پروتئینی، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی آموزشکده کشاورزی پارس آباد مغان با استفاده از ۲۹ ژنوتیپ گندم نان بهاره و بینابین به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۸۹-۱۳۸۸ اجرا گردید. صفات زراعی شامل: عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار)، تعداد بوته (متر مربع)، تعداد پنجه بارور (متر مربع)، ارتفاع بوته (سانتی متر)، طول سنبله (سانتی متر)، تعداد سنبله بارور (متر مربع)، تعداد سنبلچه در سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه (گرم)، عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)، عملکرد تک بوته (گرم)، شاخص برداشت، مساحت برگ پرچم (سانتی متر مربع)، میزان کلروفیل برگ پرچم، زمان سبز شدن، زمان پنجه زنی، زمان ساقه دهی، زمان آبستنی، زمان گلدهی، زمان شیری شدن، زمان خمیری شدن و زمان رسیدگی کامل دانه‌ها اندازه‌گیری و یاداشت شد. نتایج تجزیه واریانس از نظر صفات عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه، شاخص برداشت، تعداد بوته، تعداد پنجه بارور، ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد سنبله، تعداد سنبلچه در سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، عملکرد تک بوته، میزان کلروفیل برگ پرچم و زمان پنجه زنی تفاوت معنی‌داری میان ژنوتیپ‌ها نشان داد. از میان صفات مورفولوژیک، عملکرد بیولوژیک بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار با عملکرد دانه نشان داد. بین اکثر صفات فنولوژیک روابط مثبت و معنی‌داری ملاحظه شد. نتایج نشان دادند که ارقام شیرودی، نیک نژاد و البرز از نظر صفات عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت و عملکرد تک بوته جز ارقام برتر بودند در حالی که، ارقام بیات، توس و روشن از نظر صفات مذکور جز ارقام با میانگین پایین بودند. نتایج تجزیه رگرسیون، ارتباط خوبی را بین تعدادی از صفات اندازه‌گیری شده و برخی از نوارهای پروتئینی نشان داد و می‌توان چنین بیان کرد که برخی از مکان‌های رمزکننده پروتئین‌های ذخیره‌ای درمورد سازوکارهای تنظیمی صفات مورد مطالعه نیز مشارکت دارند و بنابراین، پروتئین‌های ذخیره‌ای می‌توانند به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی در ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام گندم نان استفاده شوند.

فهرست مطالب

عنوان | صفحه

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع

مقدمه..... ۲

۱-۱- طبقه بندی ژنتیکی گندم..... ۵

۱-۱-۱-گندم‌های تک دانه(دیپلوئید) ۵

۱-۱-۲-گندم‌های جفت دانه(تتراپلوئید)..... ۵

۱-۱-۳-گندم‌های معمولی(هگزاپلوئید)..... ۶

۱-۲- پروتئین‌های دانه گندم..... ۶

۱-۲-۱- گلوتن..... ۸

۱-۲-۱-۱- گلوتنین‌ها..... ۹

۱-۲-۱-۱-۱- زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا(HMW-GS)..... ۱۰

۱-۲-۱-۱-۱-۱- ترکیب اسید آمینه و ساختار HMW ها..... ۱۱

۱-۲-۱-۱-۲- ارتباط HMW ها با کیفیت نانوایی..... ۱۲

۱-۲-۱-۱-۲- زیرواحدهای با وزن مولکولی پایین (LMW-GS)..... ۱۲

۱-۲-۱-۱-۲-۱- ترکیب اسید آمینه و توالی‌های انتهای-N ۱۳

۱-۲-۱-۱-۲-۲- ارتباط LMWها با کیفیت نانوایی..... ۱۳

۱-۲-۱-۲- گلیادین‌ها..... ۱۳

۱-۲-۱-۲-۱- ارتباط گلیادین‌ها با کیفیت نانوایی..... ۱۵

۱-۲-۲- آلبومین‌ها و گلوبولین‌ها..... ۱۵

۱-۲-۲-۱- کیفیت در گندم..... ۱۷

۱-۳- صفات زراعی و فنولوژی ۱۹

۱-۳-۱- صفات زراعی ۱۹

۱-۳-۲- صفات فنولوژی ۲۵

۱-۴- نشانگرهای پروتئینی ۲۷

۱-۵- چشم اندازهای نوین ۲۹

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- موقعیت جغرافیایی و اقلیمی شهرستان پارس آباد ۳۳

۲-۲- مواد گیاهی ۳۳

۲-۳- عملیات زراعی ۳۵

۲-۴- ثبت مراحل فنولوژی ۳۶

۲-۵- اندازه‌گیری برخی از صفات زراعی و مورفولوژیکی ۳۶
۲-۵-۱- برداشت ۳۶
۲-۵-۲- تعداد بوته‌ها ۳۶
۲-۵-۳- عملکرد بیولوژیک ۳۶
۲-۵-۴- تعداد پنجه‌های بارور ۳۶
۲-۵-۵- ارتفاع بوته ۳۶
۲-۵-۶- طول سنبله ۳۶
۲-۵-۷- تعداد سنبله بارور ۳۶
۲-۵-۸- تعداد سنبلچه بارور ۳۶
۲-۵-۹- تعداد دانه در سنبله ۳۶
۲-۵-۱۰- عملکرد تک بوته ۳۷
۲-۵-۱۱- وزن هزار دانه ۳۷
۲-۵-۱۲- عملکرد دانه ۳۷
۲-۵-۱۳- اندازه گیری کلروفیل ۳۷
۲-۵-۱۴- مساحت برگ پرچم ۳۷
۲-۶- ارزیابی پروتئین‌ها ۳۷
۲-۶-۱- الکتروفورز پروتئین‌ها ۳۷
۲-۶-۲- محلول‌های مورد استفاده ۳۸
۲-۶-۳- نحوه استخراج پروتئین‌های HMW-GS ۳۹
۲-۶-۴- مراحل انجام الکتروفورز پروتئین‌ها ۳۹
۲-۶-۵- ارزش گذاری نوارهای پروتئینی ۴۱
۲-۷- محاسبات آماری ۴۱
فصل سوم: نتایج و بحث
۳-۱- ارزیابی صفات زراعی و مورفولوژیکی ۴۴
۳-۱-۱- عملکرد بیولوژیک ۴۴
۳-۱-۲- تعداد بوته ۴۵
۳-۱-۳- تعداد پنجه بارور ۴۵
۳-۱-۴- ارتفاع بوته ۴۶
۳-۱-۵- طول سنبله ۴۷

۳-۱-۶- تعداد سنبله بارور ۴۸
۳-۱-۷- تعداد سنبلچه در سنبله ۴۹
۳-۱-۸- تعداد دانه در سنبله ۵۰
۳-۱-۹- وزن هزار دانه ۵۱
۳-۱-۱۰- عملکرد دانه ۵۲
۳-۱-۱۱- عملکرد تک بوته ۵۳
۳-۱-۱۲- شاخص برداشت ۵۴
۳-۱-۱۳- مساحت برگ پرچم ۵۵
۳-۲- ارزیابی صفات فنولوژی ۵۶
۳-۲-۱- زمان سبز شدن ۵۷
۳-۲-۲- زمان پنجه زنی ۵۷
۳-۲-۳- زمان ساقه دهی ۵۸
۳-۲-۴- زمان گلدهی ۵۸
۳-۲-۵- زمان آبستنی ۵۸
۳-۲-۶- زمان شیری شدن ۵۹
۳-۲-۷- زمان خمیری شدن ۵۹
۳-۲-۸- زمان رسیدگی ۵۹
۳-۳- ارزیابی میزان کلروفیل ۶۰
۳-۳-۱- میزان کلروفیل ۱ ..... ۶۰
۳-۳-۲- میزان کلروفیل برگ پرچم ۶۰
۳-۴- همبستگی صفات ۶۱
۳-۵- تجزیه خوشه‌ای ۶۵
۳-۵-۱- تجزیه خوشه‌ای براساس صفات کمی مورد مطالعه ۶۵
۳-۵-۲- تجزیه خوشه‌ای پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) ۶۶
۳-۵-۳- تجزیه رگرسیونی برای پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) و صفات کمی ۶۷
۳-۶- نتیجه‌گیری کلی ۷۱
۳-۷- پیشنهادها ۷۳
منابع ۸۷

فهرست شکل‌ها

عنوان صفحه

شکل۱-۱- SDS-PAGE پروتئین‌های گلوتن گندم ۱۰
شکل۱-۲- ساختار کلی گلیادین‌های فقیر از نظر گوگرد ۱۴
شکل۱-۳- ساختار گلیادین‌های نوع α و γ ۱۴
شکل۲-۱- شمای از دستگاه الکتروفورز یک بعدی ۴۲
شکل۳-۱- مقایسه میانگین عملکرد بیولوژیک ۴۴
شکل ۳-۲- تعداد بوته ۴۵
شکل۳-۳-مقایسه میانگین تعداد پنجه بارور ۴۶
شکل۳-۴- مقایسه میانگین ارتفاع بوته ۴۷
شکل ۳-۵- مقایسه میانگین طول سنبله ۴۸
شکل ۳-۶- مقایسه میانگین تعداد سنبله بارور ۴۹
شکل ۳-۷- مقایسه میانگین تعداد سنبلچه در سنبله ۵۰
شکل ۳-۸- مقایسه میانگین تعداد دانه در سنبله ۵۱
شکل ۳-۹- مقایسه میانگین وزن هزار دانه ۵۲
شکل ۳-۱۰- مقایسه میانگین عملکرد دانه ۵۳
شکل ۳-۱۱- مقایسه میانگین عملکرد تک دانه ۵۴
شکل ۳-۱۲- مقایسه میانگین شاخص برداشت ۵۵
شکل ۳-۱۳- مقایسه میانگین مساحت برگ پرچم ۵۶
شکل ۳-۱۴- مقایسه میانگین میزان کلروفیل برگ پرچم ۶۱
شکل ۳-۱۵- دندروگرام حاصل از صفات اندازه‌گیری شده در ارقام مختلف گندم نان بر اساس ضریب تشابه فاصله اقلیدسی ۶۹
شکل ۳ - ۱۶- گروه بندی پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا بر اساس ضریب تشابه فاصله اقلیدسی و روش UPGMA ۷۰

فهرست جدول‌ها

عنوان صفحه

جدول۱-۱- ترکیب اسید آمینه پروتئین‌های آندوسپرم گندم از منابع مختلف..... ۱۷
جدول۲-۱- گزارش آب و هوای شهرستان پارس آباد در طول دوره رشد گندم..... ۳۳
جدول۲-۲- نام و شجره برخی از ارقام مورد استفاده در این پژوهش..... ۳۴
جدول۲-۳- جدول اقدامات انجام شده طی مراحل مختلف اجرای آزمایش در مزرعه..... ۳۵
جدول ۲-۴- مقادیر مورد نیاز برای ژل گذاری..... ۴۰
جدول۲-۵- مواد شیمیایی مورد استفاده درتکنیک SDS-PAGE..... ۴۱
جدول۳-۱- تجزیه واریانس صفات زراعی و فنولوژیک..... ۷۴
ادامه جدول ۳-۱- تجزیه واریانس صفات زراعی و فنولوژیک..... ۷۵
جدول۳-۲- جدول مقایسه میانگین صفات زراعی و فنولوژیک..... ۷۶
ادامه جدول۳-۲- جدول مقایسه میانگین صفات زراعی..... ۷۷
جدول۳-۳- جدول مقایسه میانگین صفات زراعی و فنولوژیک..... ۷۸
ادامه جدول ۳-۳- مقایسه میانگین صفات زراعی و فنولوژیک..... ۷۹
جدول ۳-۴- ضرایب همبستگی ساده بین صفات زراعی و فنولوژیک..... ۸۰
ادامه جدول۳-۴- ضرایب همبستگی ساده بین صفات زراعی و فنولوژیک..... ۸۱
ادامه جدول۳-۴- ضرایب همبستگی ساده بین صفات ساده زراعی و فنولوژیک..... ۸۲
جدول ۳-۵- ضرایب رگرسیون چندگانه برای پروتئین‌های HMW و صفات کمی بر اساس روش نزولی (Backward)..... ۸۳
ادامه جدول ۳-۵- جدول ضرایب رگرسیون چندگانه برای پروتئین‌های HMW و صفات کمی بر اساس روش نزولی (Backward)..... ۸۴
جدول۳-۶- مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای صفات کمی..... ۸۵

فصل اول

مقدمه و پیشینه تحقیق

مقدمه

جمعیت جهان در سال ۲۰۲۵ تقریبا به ۸/۵ میلیارد نفر خواهد رسید. بنابراین با این روند رشد جمعیت، افزایش تولید غذا با بیش از ۵۰ درصد فعلی ضروری است و واریته‌های زراعی با عملکرد بالا و پایدار مورد نیاز است. غلات به عنوان مهمترین گیاهان زراعی محسوب می‌شوند و گندم در بین غلات به صورت یک محصول استراتژیک در جهان مورد توجه است. در ایران گندم و نان حاصل از آن مهمترین منبع غذایی محسوب می‌شود و قسمت عمده کالری و پروتئین مورد نیاز از این طریق به دست می‌آید (مسعودی‌فر و محمدخانی، ۱۳۸۴). گندم نان (*Triticum aestivum*) در بین محصولات کشاورزی به لحاظ ویژگی‌های استراتژیکی که در دنیا دارد از اهمیت زیادی برخوردار است. تا جایی که کشورهای صادر کننده گندم را با نام ابر قدرت سبز می‌شناسند و تحریم‌های غذایی نیز حربه این ابر قدرت‌ها به شمار می‌رود (فاضلی نسب و همکاران، ۱۳۸۵). گندم مهمترین گیاه زراعی است (کریمی، ۱۹۹۲) و غذای اصلی بیش از ۳۰ درصد مردم جهان را تامین می‌کند (حسن‌زاده قورت تپه و همکاران، ۱۳۸۷). عمده‌ترین بخش مصرف گندم در ایران مربوط به تولید نان است و هر ساله بیش از ۹۰ درصد آن در این جهت مصرف می‌شود (نیکوسرشت و همکاران، ۱۳۸۸). نقش غلات در تغذیه انسان به جهت تامین انرژی بسیار حایز اهمیت است. در این میان، محصول گندم با تامین بیش از ۴۰ درصد کالری و ۵۰ درصد پروتئین مورد نیاز، در جیره غذایی جامعه ایرانی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. تولید گیاهان زراعی یک پدیده پیچیده است که برای هماهنگی با این پیچیدگی و شناخت عمیق عوامل فیزیولوژیکی، زراعی و محیطی، حفظ و افزایش بهره‌دهی ضروری است. گندم ارقام اصلاح شده بسیار زیادی دارد و بررسی واکنش بسیاری از آن‌ها به محیط‌های مختلف کشت با توجه به نیاز به ارقام جدید و پر محصول و سازگار به مناطق مختلف کشور ضروری به نظر می‌رسد (کاظمی، ۱۹۹۹). پروتئین دانه گندم به دلیل حجم بالای مصرف، بخش عمده‌ای از نیاز غذایی انسان را تامین می‌کند (لمون، ۲۰۰۷). میزان پروتئین دانه گندم تحت تاثیر مدیریت‌های زراعی نظیر میزان، زمان و چگونگی مصرف نیتروژن، نوع ژنوتیپ و شرایط محیطی در مراحل قبل و پس از گرده‌افشانی و همچنین، برهمکنش عوامل محیطی با نوع ژنوتیپ قرار دارد. در حال حاضر اصلاح و معرفی ژنوتیپ‌هایی با عملکرد دانه بالا و درصد پروتئین مناسب از

جمله اهداف اصلی برنامه‌های به‌نژادی گندم به شمار می‌رود، ولی به دلیل همبستگی منفی و معنی‌دار میان وزن و عملکرد دانه با درصد نیتروژن (پروتئین) دانه، معرفی ژنوتیپ یا ژنوتیپ‌هایی با ویژگی‌های مذکور تا کنون کمتر موفقیت آمیز بوده است (مدحج و همکاران، ۱۳۸۸). یک رقم موفق گندم علاوه بر عملکرد بالا و صفات مطلوب باید در دامنه وسیعی از شرایط محیطی از برتری عملکرد برخوردار باشد. برای این منظور لاین‌های انتخابی از آزمایش‌های تکراردار ایستگاه‌ها، در مناطق مختلف برای تعیین عملکرد و اثر متقابل رقم در محیط کاشته می‌شوند. ارقامی که بتوانند در مناطق مختلف دارای تنش خشکی آخر فصل، عملکرد بالاتری تولید کنند و همچنین، بتوانند پایداری عملکرد خود را در سال‌های مختلف و در مناطق گوناگون حفظ کنند، جزو ارقام موفق خواهند بود. این گونه بررسی‌ها در برنامه‌های اصلاحی متداول است (محفوظی و همکاران، ۱۳۸۸). با توجه به افزایش روز افزون جمعیت جهان از یک طرف و افزایش محدود سطح کشت محصولات کشاورزی از طرف دیگر، بشر در تامین غذای خود با مشکلات جدیدی روبرو گردیده است و رفع چنین مشکلی مستلزم افزایش عملکرد محصولات کشاورزی در واحد سطح است. افزایش عمکلرد در واحد سطح به سه روش قابل حصول است. یک اعمال روش‌های زراعی پیشرفته، دوم تولید ارقام برتر از لحاظ عملکرد بالا، مقاومت به آفات، بیماری‌ها و تحمل به تنش‌های محیطی و راه سوم، افزایش تولید در واحد زمان است (کامرانی، ۱۳۷۹). تولید ارقام برتر که به افزایش تولید گندم کمک کرده است، بدون شناسایی تنوع ژنتیکی آن‌ها امکان پذیر نبوده است. تنوع ژنتیکی در توده‌های بومی و گونه‌های وحشی طی سال‌های متمادی ایجاد و حفظ شده است، به - طوری که ژنوتیپ‌های بومی در شرایط محیطی ویژه منطقه تحت گزینش طبیعی قرار گرفته‌اند و ژرم پلاسم مناسب به منظور اصلاح ژنتیکی گیاهان زراعی دارند. دانشمندان علوم گیاهی به این نتیجه رسیده- اند که تنوع طبیعی به لحاظ دارا بودن فرم‌های پایدار و ژن‌های مطلوب و اقتصادی، به مراتب با ارزش‌تر از تنوع مصنوعی است. برآورد تنوع ژنتیکی در ارقام زراعی از جنبه کاربرد در برنامه‌های به‌نژادی و محافظت از منابع ژنتیکی حایز اهمیت است (زکی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹). تجزیه الکتروفورزی توده‌های بومی گندم برای اجزای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS)[1] تا کنون به دو منظور زیر صورت گرفته است:

۱) بررسی پلی مورفیسم و پراکندگی جهانی آلل‌های Glu-1

[1] - High Molecular Weight Glutenin Subunits

۲) بررسی رابطه بین اجزای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و کیفیت نانوایی آرد گندم

کاربرد الکتروفورز در ژل پلی اکریل آمید (PAGE)[1] برای پروتئین‌های ذخیره‌ای غلات روش مناسبی برای ارزیابی تنوع شیمیایی در ارقام و در بعضی از جوامع بومی گندم است. این روش ممکن است به منظور جمع آوری ژرم‌پلاسم در مناطقی که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای دارند یا در مناطقی که تنوع پذیری زیادی در آنجا انتظار می‌رود، مورد استفاده قرار گیرد (بابایی، ۱۳۷۵). یکی از ابزارهای مفید برای گزینش ژنوتیپ‌ها، نشانگرهای مولکولی هستند. در سال‌های اخیر با استفاده از نشانگرهای مولکولی و بررسی چند شکلی آن‌ها تعداد زیادی از ژن‌های کنترل کننده صفات کمی و کیفی در گیاهان مختلف، بر روی کروموزوم‌های مربوط شناسایی و سپس، از طریق این نشانگرها برای گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب اقدام شده است. یکی از جنبه‌های کاربرد نشانگرهای مولکولی، تعیین کیفیت محصولات کشاورزی است. در گندم با استفاده از تکنیک الکتروفورزی SDS-PAGE[2] می‌توان قضاوت‌هایی را در مورد کیفیت نانوایی ژنوتیپ‌های مختلف گندم انجام داد و در صورت وجود ژن‌های مفید در بین این توده‌ها، ژنوتیپ-های مطلوب را شناسایی کرده و در برنامه‌های پژوهشی مورد استفاده قرار داد. به دلیل این‌که پروتئین‌ها فرآورده ژن‌ها هستند، بازتابی از ژنوتیپ را در اختیار ما قرار می‌دهند و می‌توانند به عنوان نشانگر برای صفاتی که ژن‌های کنترل کننده آن‌ها در مجاورت ژن‌های رمز کننده این پروتئین‌ها هستند، بکار روند (ایناگاکی و اگاوا، ۱۹۹۴). تحقیقات مربوط به کیفیت نانوایی گندم در کارهای پژوهشی این محصول دارای اهمیت به سزایی است، چرا که بهینه کردن کیفیت نانوایی گندم یکی از روش‌های افزایش بهره‌وری تولید گندم است. اهمیت کلی این محصول استراتژیک ایجاب می‌کند تا در تمام جوانب تولید آن کاوش-های دقیق صورت گیرد و روش‌های ارزیابی اصلاح ارتقا یابد تا ارقام گندمی که در برنامه‌های پژوهشی معرفی می‌شوند از هر جهت مناسب و مورد پسند مصرف کننده باشند. کیفیت نانوایی این محصول یکی از این جوانب است که مشخص کردن قواعد پیچیده آن و دلایل تنوع ارقام از لحاظ این صفت برای محققان دارای اهمیت زیادی است (نجفیان، ۱۳۸۰).

[1] - Polyacrylamide Gel Electrophoresis
[2] - Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis

۱-۱- طبقه بندی ژنتیکی گندم

واویلوف[1] دانشمند روسی، گندم را بر اساس ویژگی‌های ژنتیکی تقسیم بندی کرد. بر اساس این تقسیم بندی تمام گونه‌های گندم به سه دسته دیپلوئید (۱۴کروموزوم)، تتراپلوئید (۲۸کروموزوم) و هگزاپلوئید (۴۲کروموزوم) تقسم شده‌اند.

۱-۱-۱- گندم‌های تک دانه[2] (دیپلوئید)

گندم‌های دیپلوئید (۲n=۱۴ کروموزوم با ژنوم AA) شبیه جوهای دو ردیفه (دوپر) هستند، به طوری که در هر سنبلچه در محور سنبله فقط یک دانه وجود دارد. گندم‌های دیپلوئید تک دانه مانند *T .aegilopoides* از یک علف باریک برگ بوجود آمده‌اند. این گندم‌ها را می‌توان امروزه در یونان و قسمت‌هایی از آسیای صغیر پیدا کرد. این مناطق از دنیا به عنوان مرکز اولیه تنوع ژنتیکی این نوع گندم شناخته شده‌اند. پوشینه‌های گندم‌های تک دانه اغلب پس از خرمن کوبی به آن چسبیده هستند(دانه‌های پوشینک‌دار). گونه *T .monococcum* به وضوح دارای کیفیت آردی بهتری نسبت به گونه *T. aegilopoides* است و وزن هزار دانه بیشتری دارد. گندم‌های تک دانه به احتمال زیاد می‌توانند به عنوان یک گیاه زراعی مورد کشت و کار قرار گیرند، ولی در زراعت جو به عنوان علف هرز محسوب می‌گردد. تا امروز نوع زراعی و سخت آن (بدون پوشینک) شناخته نشده است.

۱-۱-۲- گندم‌های جفت دانه[3] (تتراپلوئید)

گندم‌های تتراپلوئید ۲n=۲۸ کروموزوم با ژنوم AABB هستند. نوع وحشی Emmer با جفت دانه *T. dicoccoides* نتیجه تلاقی خود به خودی *T. aegilopoides* با *Aegilops speltoides* است که مراکز اولیه ژن آن‌ها را آسیا می‌دانند. از نظر تکاملی *T. dicoccoides* از خویشاوندان *T. timopheev* است. نوع زراعی این گندم *T. dicoccum* است. در مصر این گندم در سطح وسیعی به عنوان گندم نان کشت و کار می‌شود. پس از جهش یا موتاسیون نوع زراعی و سخت آن (بدون پوشینک)، *T.durum* به وجود آمده است.

---

[1] -Vavilov
[2] - Einkorn
[3] - Emmer

۱-۱-۳- گندم‌های معمولی[1] (هگزاپلوئید)

این گندم از طریق یک تلاقی خود به خودی Emmer یا *T. dicoccum* با یک گیاه باریک برگ وحشی به نام *Aegilops squrrosa* (۲n=۱۴ کروموزوم با ژنوم DD) به وجود آمده است که دارای ۴۲ کروموزوم با ژنوم AABBDD هستند. نوع وحشی و پوستدار آن تا کنون نه در مرکز ژن آسیای مرکزی و نه در پژوهش‌های باستان شناسی مشاهده شده است، ولی این مطلب که *T. macha* که گندم هگزاپلوئید پوشینک‌دار و با محور سنبله شکننده به شمار می‌رود از این نوع گندم‌ها است. *T.vavilovi* نیز یک گندم هگزاپلوئید پوستدار است و به نظر می‌رسد که بر اثر یک موتاسیون ساده به وجود آمده است و از نوع سخت آن یعنی *T. aestivum* و *T. spltiformae* که امروزه مورد کشت و کار قرار می‌گیرد، گندم نان به نام *T.aestivum* حاصل شده است. نوع بهاره این نوع گندم‌ها به عنوان گندم‌های سخت شناخته شده است و نوع گندم نرم آن نیز از دو نوع گندم‌های نرم پاییزه و گندم‌های نرم بهاره تشکیل یافته است. انواع گندم‌های هگزاپلوئید دارای ارقام بسیاری هستند که در تمام قسمت‌های دنیا مورد کشت و کار قرار می‌گیرند (ایران نژاد و شهبازیان، ۱۳۸۴).

۱-۲- پروتئین‌های دانه گندم

دانه گندم ۲۷-۶ درصد پروتئین دارد. با وجود این ارقام تجاری بین ۱۶-۸ درصد پروتئین دارند که دامنه زیاد تغییرات، نتیجه اثر توام محیط و ژنوتیپ است (گوپتا و مک ریچی، ۱۹۹۴). اولین مطالعه در مورد پروتئین‌های بذر گندم توسط اوسبورن در سال ۱۹۰۷ میلادی انجام گرفت. در تقسیم‌بندی وی پروتئین‌های بذر گندم بر اساس حلالیت به چهار گروه تقسیم شده‌اند. دو گروه محلول و دارای فعالیت‌های متابولیکی (آلبومین‌ها و گلوبولین‌ها) و دو گروه دیگر غیر فعال و نامحلول هستند (گلوتلین یا گلوتنین‌ها و پرولامین یا گلیادین‌ها). آلبومین محلول در آب، گلوبولین محلول در نمک، گلیادین محلول در الکل اتیلیک ۷۰ درصد و گلوتنین‌ها ترکیبی از پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا[2] و پایین[3] هستند که توسط پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی به هم متصل شده‌اند و در اسید و قلیای ضعیف حل می‌شوند. گلوتنین‌ها و گلیادین‌ها ۸۵ درصد کل پروتئین‌های ذخیره‌ای را تشکیل می‌دهند (آراسته، ۱۳۷۳). از چهار دسته پروتئین‌های مشخص شده در دانه گندم، دو دسته گلوتنین‌ها و گلیادین‌ها پروتئین‌های

[1] - Dinkel
[2] - High molecular wight (HMW)
[3]- Low molecular wight (LMW)

ذخیره‌ای دانه به شمار می‌روند که هر کدام در حدود ۴۰ درصد از کل پروتئین آرد را تشکیل می‌دهند و تنها حدودا ۱۰ درصد از کل پروتئین آرد مربوط به آلبومین و گلوبولین است (آسبورن، ۱۹۰۷؛ اسچوفیلد و بوث،۱۹۸۳). آلبومین و گلوبولین در سلول‌های لایه آلورن، پوسته و جنین متمرکزند و به مقدار اندکی در آندوسپرم نیز وجود دارند. تحقیقات نشان داده است که پروتئین‌هایی که از لحاظ متابولیکی فعال هستند، به این دو گروه از پروتئین‌ها تعلق دارند (آراسته، ۱۳۷۳). زیر واحدهای گلوتنینی با وزن مولکولی بالا در حدود ۱۰ درصد از گلوتن را تشکیل می‌دهند و سهم به سزایی در کیفیت مطلوب نانوایی دارند. آن‌ها بر اساس ارزش‌های تحرک پذیری و توالی به دو تیپ x و y رتبه‌بندی می‌شوند. اجزای اسید آمینه‌ای این زیر واحدها شامل گلایسین (۱۹-۱۴ درصد)، گلوتامین (۳۹-۳۷ درصد) و پرولین (۱۴-۱۲ درصد) است. با توجه به این که پروتئین‌های زیر واحدهای گلوتنینی به ویژه با وزن مولکولی بالا سرشار از گلوتامین و گلایسین هستند، حذف و یا بیش‌بود توالی غنی از این اسید آمینه‌ها در عملکرد بیولوژیکی آن‌ها نقش به سزایی دارد (حلاجیان و ناصریان خیابانی، ۱۳۸۶). بکویت و همکاران (۱۹۶۶) از طریق الکتروفورز پروتئین‌ها توانستند بخش کوچکی از پروتئین‌های محلول در اتانول را کشف کنند که این گروه گلیادین‌های با وزن مولکولی بالا نامیده شدند. جکسون و همکاران (۱۹۸۳) با استفاده از الکتروفورز دو بعدی نشان دادند که زیر واحدهای تشکیل دهنده این پروتئین‌ها شبیه زیر واحدهای LMW و متفاوت از پلی‌پپتیدهای گلیادین‌ها هستند. فیلد و همکاران (۱۹۸۳) با استفاده از ۱- پروپانول ۵۰ درصد به جای اتانول۷۰ درصد بعضی از زیر واحدهای HMW را همراه با زیر واحدهای LMW در بخش پروتئین‌های محلول در الکل شناسایی کردند. در تمام موارد، بعد از حذف پیوندهای دی‌سولفید همه پروتئین‌های گلوتن در اتانول ۷۰ درصد و دیگر الکل‌ها مثل n-پروپانول قابل حل هستند و به صورت زنجیره‌های پلی‌پپتیدی منفرد در می‌آیند، به همین دلیل شوری و همکاران (۱۹۸۶) این پروتئین‌ها را به عنوان پرولامین طبقه بندی کردند. به علاوه، وجود شباهت بسیار زیاد بین ساختارLMW و گلیادین‌ها دلیل دیگری برای گروه بندی این پروتئین‌ها در گروه پرولامین‌ها است. در داخل این گروه اختلافاتی از لحاظ صفات بیوشیمیایی وجود دارد و این گروه به سه دسته غنی از گوگرد، فقیر از گوگرد و پرولامین‌های با وزن مولکولی بالا تقسیم می‌شوند. اوارت (۱۹۹۰) طبقه بندی شوری را مورد انتقاد قرار داد، زیرا گلوتنین‌های پلی‌مریک قدرت تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی دارند، بنابراین از گلیادین‌های منومریک متفاوت هستند. اختلاف اساسی بین این دو گروه پروتئین ذخیره-

ای زمانی مشخص شد که وظایف آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. گلیادین‌ها زنجیره پلی‌پپتیدی منفرد هستند، در حالی که گلوتنین‌ها ساختار چند زنجیره‌ای دارند که توسط پیوندهای دی‌سولفید به هم وصل شده‌اند. زیر واحدهای با وزن مولکولی خیلی بالای این ساختارهای پلی‌مری مسوول نامحلولی نسبی و مشارکت مشخص گلوتنین‌ها در کیفیت گندم نسبت به گلیادین‌ها هستند. بنابراین، طبقه بندی این پروتئین‌ها به شکل مونومریک و پلی‌مریک روش مناسبی برای نشان دادن وظایف این پروتئین‌ها در کیفیت خمیر به حساب می‌آیند. به طور کلی، تمام پروتئین‌های گلوتن (گلوتنین‌ها و گلیادین‌ها) غنی از اسید آمینه پرولین و گلوتامین هستند و به همین دلیل آن‌ها را پرولامین می‌نامند. کلمه پرولامین از ترکیب اسم دو اسید آمینه مذکور به دست می‌آید (پاین و لاورنس، ۱۹۸۳).

۱-۲-۱- گلوتن

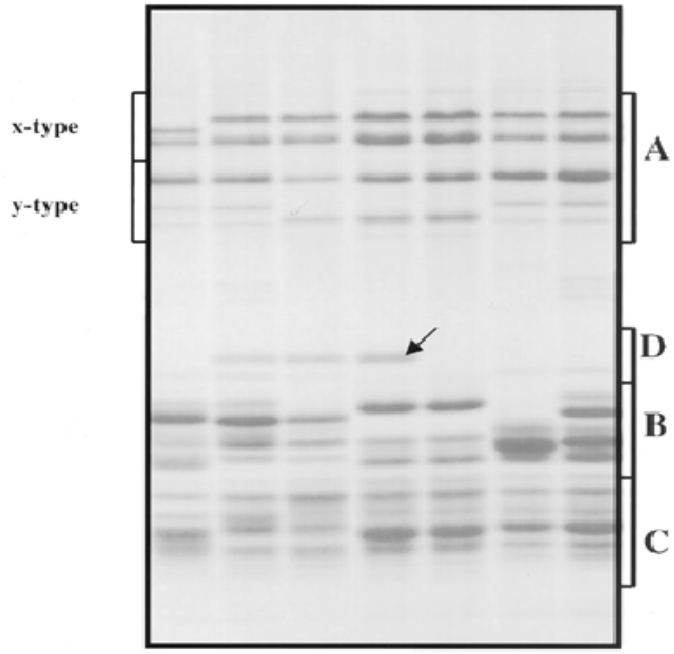
گلوتن از آبشویی خمیر توسط محلول نمک به دست می‌آید. گلوتن شامل گلوتنین و گلیادین است و از مدت‌ها قبل به عنوان عامل تعیین کننده ارزش نانوایی در گندم شناخته شده است. گلوتن حاوی ۸۵-۷۵ درصد پروتئین است و مواد غیر پروتئینی گلوتن شامل کربوهیدرات‌ها (۱۷-۱۶ درصد) که بیشتر نشاسته و مقدار کمی از پنتوزان‌های غیر نشاسته‌ای است، چربی‌ها (۶/۸-۳/۵ درصد) و مواد معدنی (۰/۹-۰/۵ درصد) است (واندربورت، ۲۰۰۵). شواهد بیانگر آن است که ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر، به طور مستقیم از بخش‌های تشکیل دهنده گلوتن ناشی می‌گردد (فیضی‌پور و همکاران، ۱۳۸۴). گلیادین در ویسکوزیته[1] خمیر و گلوتنین در قوام خمیر نقش برجسته‌ای دارند (مک‌ریچی، ۱۹۸۰). گلیادین‌ها پروتئین‌های مونومریک هستند که فقط توسط پیوندهای دی‌سولفیدی داخل مولکولی شکل می‌گیرند (داویدیو و همکاران، ۲۰۰۴). پروتئین‌های مونومریک در پایدار شدن شکل مارپیچی گلیادین نقش دارند (لی و همکاران، ۲۰۰۴). گلیادین‌ها به چهار گروه α، β (که ویژگی‌های ساختمانی مشابه دارند)، γ و ω تقسیم شده‌اند (داویدیو و همکاران، ۲۰۰۴). گلوتنین‌ها از زیر واحدهای با وزن مولکولی زیاد (محدوده وزن ۹۰،۰۰۰ - ۷۰،۰۰۰ دالتون) و کم (محدوده ۴۵،۰۰۰ - ۲۰،۰۰۰ دالتون) تشکیل شده‌اند (کلیدون و همکاران، ۲۰۰۳; داویدیو و همکاران، ۲۰۰۴ ; اسلیوینسکی و همکاران، ۲۰۰۴). گلوتنین‌ها که مسوول ویژگی‌های ویسکوالاستیک[2] خمیر هستند، پروتئین‌های پلیمریکی به شمار می‌روند که زیر واحدهای آن-ها توسط پیوندهای دی‌سولفیدی درون مولکولی به هم اتصال یافته‌اند، اگر چه در آن‌ها پیوندهای برون

[1] -Viscosity
[2] -Viscoelastisity

مولکولی نیز دیده می‌شود (داویدیو و همکاران، ۲۰۰۴). برای تشکیل گلوتن، غلظت حداقل ۲ درصد از گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا لازم است (اسلیوینسکی و همکاران، ۲۰۰۴). ساختار یک شبکه گلوتنی متشکل از ماکروفیبریل‌ها است که ویژگی‌های تکنولوژیکی گلوتن را تعیین می‌کند. حضور ترکیبات موثر بر آرد مثل ترکیبات دیواره سلول و افزودنی‌ها می‌تواند بر روی تشکیل شبکه گلوتنی تاثیر بگذارد. این تاثیر اغلب یا به علت واکنش مستقیم پنتوزان‌ها با مولکول‌های گلوتن و تغییر شبکه گلوتنی است و یا به طور غیر مستقیم به وسیله تغییر توزیع آب بین گلوتن و دیگر ماکرومولکول‌ها و به ویژه پنتوزان‌ها (آرابینوگزیلان) روی می‌دهد (وانگ مینگ وی، ۲۰۰۳). آنزیم گزیلاناز (EC ۳.۲.۱.۸) یک آنزیم هیدرولیز کننده است که به طور اختصاصی آرابینوگزیلان را هیدرولیز می‌کند و به طور وسیعی در صنایع پخت مورد استفاده قرار می‌گیرد (سلین هیمو، ۲۰۰۶). در صنعت تولید نشاسته و گلوتن با کاربرد گزیلانازها برای تجزیه آرابینوگزیلان محلول و ایجاد ویسکوزیته کمتر در خمیر، هدف نهایی افزایش بازده تولید نشاسته و گلوتن است. پنتوزان‌ها در آرد گندم با وجود مقدار کم (۳-۲ درصد)، به صورت مستقیم و غیر مستقیم بر روی تشکیل شبکه گلوتنی در حین جداسازی نشاسته از گلوتن موثر هستند (وانگ مینگ وی، ۲۰۰۳). پنتوزان‌ها با رقابت در جذب آب و هم چنین پیوندهای کووالانسی با گلوتنین، مانع از تشکیل شبکه گلوتنی می‌شوند (وانگ، ۲۰۰۳).

۱-۲-۱- ۱- گلوتنین‌ها

پلی‌مرهای گلوتنین با وزن مولکولی بیش از ۲۰میلیون دالتون جزو بزرگترین مولکول‌ها در طبیعت هستند که وزن مولکولی آن‌ها در ژل SDS-PAGE به کمک پروتئین‌های استاندارد برآورد می‌شود (رایگلی، ۱۹۹۶). این پروتئین‌ها مخلوطی از پلی‌مرهای مختلف هستند که توسط پیوندهای دی‌سولفیدی بین پلی‌پپتیدها به هم وصل شده‌اند. این پروتئین‌ها بعد از حذف پیوندهای دی‌سولفیدی و بر اساس حرکت الکتروفورزی در SDS-PAGE به چهار گروه تقسیم می‌شوند. گروه A که وزن مولکولی آن‌ها در محدوده ۱۲۰-۸۰ هزار دالتون باشد، HMW-GS نامیده می‌شود. گروه B و C به ترتیب با وزن مولکولی ۵۱-۴۲ و ۴۰-۳۰ هزار دالتون، LMW-GS نام دارند که با γ و α گلیادین‌ها پیوستگی دارند (تامپسون و همکاران، ۱۹۹۴). گروه D نیز LMW-GS هستند و میزان اسیدیته بالایی دارند و با ω-گلیادین‌ها پیوسته هستند (ماسکی و همکاران، ۱۹۹۳). شکل۱-۱ زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا را نشان می-دهد.



شکل۱-۱- SDS-PAGE پروتئین‌های گلوتن گندم، A: زیر واحدهای گلوتنین HMW که زیر واحدهای نوع x و نوع y را نشان می‌دهد. C-B و D: زیر واحدهای گلوتنین LMW. فلش زیر واحد D را نشان می‌دهد. اقتباس از (جاینیبلی و همکاران، ۲۰۰۱).

۱-۲-۱-۱-۱- زیر واحدهای با وزن مولکولی بالا (HMW-GS)

زیر واحدهای HMW از لحاظ کمیت از اجزای فرعی به شمار می‌آیند، ولی در فرآیند تهیه نان نقش مهمی در الاستیسیته گلوتن دارند (تاتام و همکاران، ۱۹۸۵a). برای مطالعه اجزای گلوتنین در گندم از روش SDS-PAGE استفاده می‌شود. گلوتنین از دو زیر واحد تشکیل شده است. زیر واحدهای LMW که وزن مولکولی آن‌ها ۷۰-۱۰ هزار دالتون و زیر واحدهای HMW که وزن مولکولی آن‌ها در حدود ۱۳۰-۸۰ هزار دالتون می‌باشد (بیتز و وال، ۱۹۷۲). وزن مولکولی HMWها از طریق SDS-PAGE برآورد می‌شود و مقداری تقریبی است، ولی برآورد وزن واقعی آن‌ها توسط توالی‌یابی اسید آمینه نشان می‌دهد که وزن آن‌ها کمتر و در محدوده ۹۰-۶۰ هزار دالتون است. (آندرسون وهمکاران، ۱۹۸۹). زیر واحدهایHMW به ویژه آن‌هایی که توسط ژنوم D کنترل می‌شوند (بران لارد و داردویت، ۱۹۸۵؛ گوپتا و مک ریچی، ۱۹۹۴) اهمیت به سزایی در کیفیت نانوایی گندم دارند. تاکید بر زیر واحدهای HMW در اوایل به خاطر دستیابی آسان به این پروتئین‌ها بود، زیرا طی الکتروفورز در بالای ژل قرار می‌گیرند و به