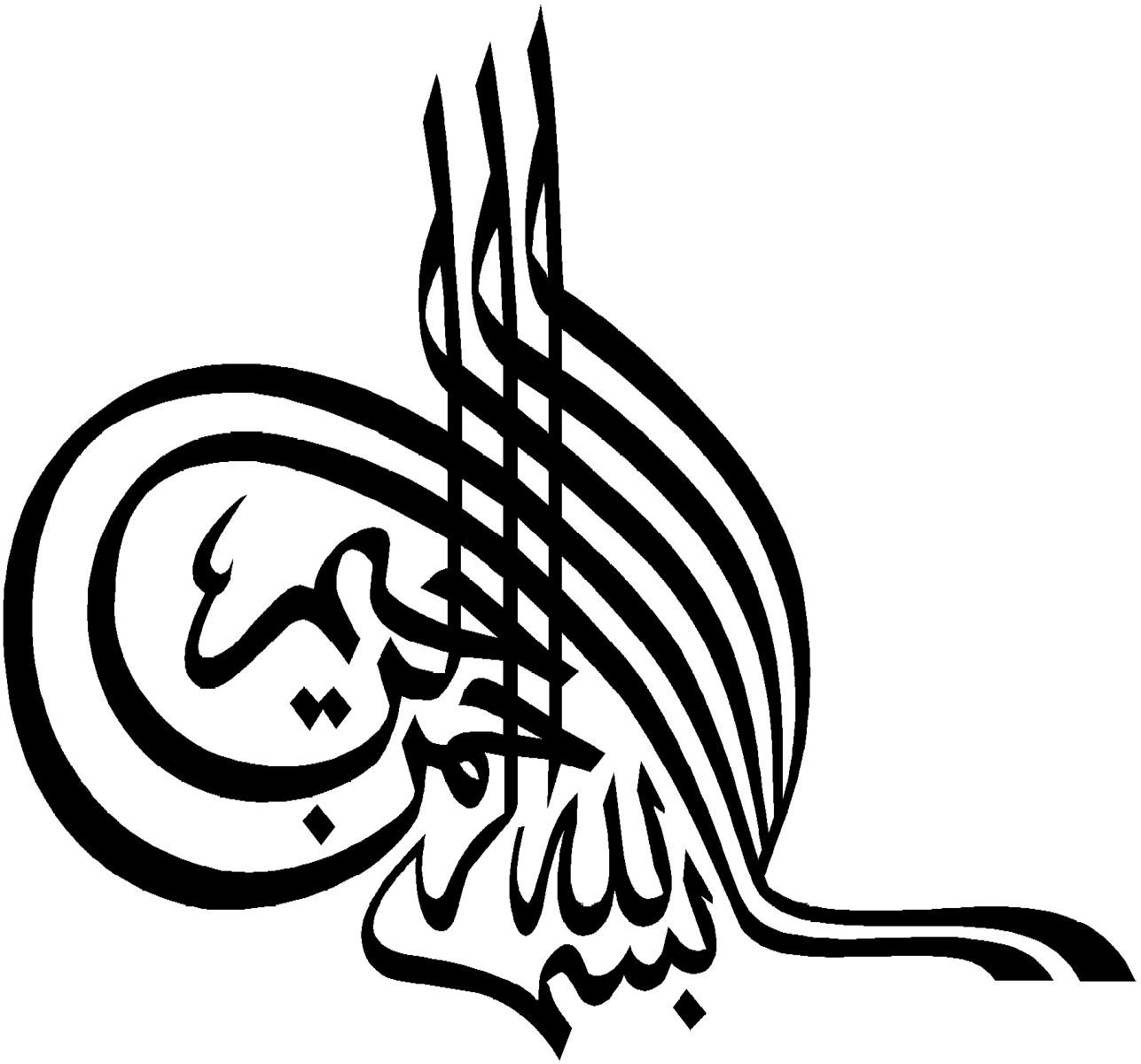

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه شیراز
دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (علوم و تکنولوژی بذر)

عنوان:

مقایسه کمی و کیفی پروتئین بذر ارقام مختلف گندم با استفاده از نشانگرهای آیزوزایم

استادان راهنما:

دکتر سهیل پارسا

دکتر علی ایزانلو

استاد مشاور:

دکتر محمدقادر قادری

نگارش:

صادق قریشی

تیر ۱۳۹۲

... و در آغاز، هیچ نبود، کلمه بود و آن کلمه خدا بود

این پایان نامه را اگر بهایی است تقدیم می کنم به،

پدر و مادرم که حقیقت معنا هستند

که هر آن چه در وجودم تجلی یافته

بی شک از صفای باطن آنهاست.

خواهر و برادرانم که همراهانم بودند،

و به همسرم که آرامشم را مدیون مهربانی و محبتش می دانم.

و تقدیم به مهسا کوچولوی نازنین

پیشگفتار

کیفیت گندم از لحاظ نانوایی به‌وسیله دو گروه مورد بررسی و ارزیابی قرار می‌گیرد:

گروه اول: حوزه صنایع غذایی می‌باشد که با استفاده از فاکتورهایی مانند آمیلوگراف، فارینوگراف، اکستنسوگراف و آلوئوگراف و ... پخت نان را بررسی می‌کنند و سپس کیفیت نانوایی را براساس طعم و مزه، حجم ، شکل و قابلیت نگهداری نان برآورد خواهند کرد. این کار هم زمان‌بر و هم پر هزینه می‌باشد.

گروه دوم: عوامل گیاهی و کشاورزی می‌باشد که حوزه‌های اصلاح و تکنولوژی بذر در آن فعالیت دارند. اصلاح‌گر با تلاقی والدهای باکیفیت و با بررسی نتاج آن‌ها و شناسایی ژن‌های مهم تأثیرگذار بر کیفیت نانوایی گندم در نهایت کیفیت گندم را می‌سنجند که کاری پر هزینه و زمان‌بر می‌باشد. همچنین بذور حاصل از نسل F1، جهت انجام آزمایشات کیفی و تأمین آرد بسیار کم می‌باشد.

علوم و تکنولوژی بذر بر روی پروژه‌های بازاریابی، تأمین، توزیع و تولید بذور (ارقام) با کیفیت فعالیت دارد. از بذر و دانه استفاده‌های زیادی می‌شود که مهم‌ترین اهداف تکنولوژی بذر شامل موارد زیر می‌باشد:

- استفاده از بذور به‌عنوان سیستم انتقال صفات زراعی (حاوی ژن‌های مفید)
- استفاده به‌عنوان غذا (حاوی ترکیبات ضروری)
- مواد خام اولیه یا کالاهای فیبری

در این میان دانه گندم به عنوان ماده خام اولیه جهت نان و تأمین غذا اهمیت ویژه‌ای دارد. پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه گندم از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر کیفیت نانوایی می‌باشند که امروزه با استفاده از تکنیک‌های جدید مانند نشانگرهای مولکولی و الکتروفورز (SDS-PAGE) می‌توان با شناسایی و نام‌گذاری این پروتئین‌ها، کیفیت ارقام گندم را بررسی کرد. با استفاده از این نشانگرها در مراکز تولید بذر، آزمون‌های DUS (آزمون تمایز-خلوص- پایداری) انجام می‌شود. از مزایای این نشانگرها این است که در همان مراحل اولیه اصلاحی می‌توان اطلاعاتی را از ارقام جهت پخت نان بدست بیاوریم. همچنین انجمن بین المللی آزمون بذر (ISTA) از الکتروفورز پروتئین‌های بذر و شناسایی باندهای آن‌ها که هر یک نشان دهنده یک صفت خاص هستند، ارقام با کیفیت را معرفی می‌کند و از گسترش ارقام نامرغوب جلوگیری می‌شود.

آنچه گفته شد جهت ارتباط این پژوهش با تخصص اینجانب (علوم و تکنولوژی بذر) بود. در پژوهش انجام شده، کیفیت نانوایی با استفاده از نشانگرهای بیوشیمیایی و صفات کمی و کیفی پروتئین بذر ارقام مختلف گندم، مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. این پژوهش برای اولین بار در دانشکده کشاورزی با وجود کمبود امکانات انجام گردید و شاید دارای اشتباهات و کاستی‌هایی باشد. امیدوارم سایر محققین این مسیر را ادامه بدهند، هرچند دارای سختی‌ها و مشکلاتی خواهد بود ولی با عنایت پروردگار، تلاش مضاعف و داشتن اساتید مجرب در این زمینه این کار شدنی خواهد شد.

"هیچ صیادی از جویی حقیر که به گودالی می ریزد مروارید صید نخواهد کرد"

حمد و سپاس خدای را که در سایه عنایت بی انتهایش، توفیق آموختن را میسر ساخت تا بـه اقتضـای وسع و توانم قطره‌ای ناچیز از دریای بی کران دانـش و ره توشـه‌ای از معلومـات گسـترده اسـاتید گرانقـدر برگیریم.

اکنون که این پایان‌نامه با یاری خداوند به اتمام رسیده، خود را ملزم می‌دانیم بدین وسیله از زحمات و محبت‌های کلیه اساتید و سرورانی که در طول تحصیل به بنده عنایت داشـته بـا کمـال احتـرام و خضـوع قدردانی و سپاسگزاری نمایم. و در این میان از اساتید راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر سـهیل پارسـا و جناب آقای دکتر علی ایزانلو که با گشاده‌رویی و حوصله، چه در طول دوره تحصیلی و چه در باب راهنمایی پایان نامه بنده را مورد افتخار شاگردی خود پذیرفتند، بدین خاطر یک عمر بر خود می بالم کمال تشـکر و امتنان را دارم. بدون تردید تکمیل این پایان نامـه بـدون راهنمـایی و حمایـت دکتـر پارسـا و پشـتیبانی و دلسوزی دکتر ایزانلو در انجام آزمایشات عملی، برای من مقدور نبود. از استاد مشـاورم جنـاب آقـای دکتـر محمد قادر قادری نیز به خاطر راهنمایی های ارزنده‌شان و در اختیار قرار دادن ارقـام ایـن پـژوهش کمـال تشکر را دارم. همچنین از جناب آقای دکتر مجید جامی الاحمدی و جناب آقای دکتر محمد ضابط بخـاطر بازخوانی پایان نامه و ارائه نظرات علمی‌شان کمال تشکر و قدر دانی را دارم. از نماینـده محتـرم تحصـیلات تکمیلی، جناب آقای دکتر بخشی، مدیر گروه محترم جناب آقای دکتر محمـودی و منشـی محتـرم گـروه سرکار خانم عاملی تشکر و قدردانی می‌گردد. از حمایت‌ها و تشویق‌های خانواده عزیزم بـه خصـوص پـدر و مادر و همسر گرامی‌ام کمال امتنان را دارم. سپاس فراوان و خالصانه خود را به همکلاسی ها و همه دوستان گرانقدرم (این کاغذ اقتضای آوردن نام این سروران را ندارد) که بنده را به هر نحوی همراهی و یاری داده‌اند تقدیم می‌دارم و امید دارم در تمامی مراحل زندگی علمی و عملی خویش موفق و سربلند باشند. از مسئول محترم انتشارات، نگهبانی دانشکده، مسئولین محترم آزمایشگاه بیوتکنولـوژی و اصـلاح، ژنتیـک، تغذیـه و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و همچنین مسئولین آزمایشگاه شیمی غلات مؤسسه تحقیقـات اصـلاح و تهیه نهال و بذر کرج کمال تشکر و تقدیر دارم.

با آرزوی توفیق

قریشی تیر ۹۲

چکیده

گندم نان به‌عنوان یک گیاه استراتژیک در راستای ترویج امنیت غذایی در سراسر جهان و به‌ویژه در ایران محسوب می‌شود. پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گندم به‌خصوص زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-Gs) از عمده عوامل مؤثر بر کیفیت نان می‌باشند. به‌منظور مقایسه صفات کمی و کیفی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (تنوع زیرواحدهای گلوتنین سنگین)، ۲۵ رقم گندم‌های نان ایرانی و استرالیایی با استفاده از روش الکتروفورز ژل اکریل‌آمید با سدیم دودسیل‌سولفات (SDS-PAGE) مورد مطالعه قرار گرفتند. آزمایش در شرایط آب و هوایی بیرجند در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. صفات کمی اندازه‌گیری شده شامل وزن هزاردانه، طول بذر، عرض بذر، ارتفاع سنبله و تعداد سنبلچه در سنبله بودند. صفات کیفی شامل درصد پروتئین، حجم رسوب زلنی، ارتفاع رسوب SDS، حجم نان، سختی دانه، میزان جذب آب و درصد رطوبت براساس استانداردهای بین المللی AACC بودند. نتایج نشان داد که در مکان ژنی Glu-A1، ۵۲ درصد از ارقام دارای زیرواحد*۲، ۳۶ درصد زیرواحد نول و ۱۲ درصد دارای زیر واحد ۱ بودند. در مکان ژنی Glu-B1، زیرواحد ۸+۷ و ۱۶+۱۳ به‌ترتیب با ۴۰ و ۸ درصد بیشترین و کم‌ترین فراوانی را داشتند. در مکان ژنی Glu-D1، ۴۰ درصد ارقام دارای زیرواحد ۱۰+۵ و ۶۰ درصد بقیه دارای زیرواحد ۱۲+۲ بودند. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام به گام نشان داد که صفت عرض دانه ۵۰ درصد از تغییرات درصد پروتئین را توجیه می‌کند. تجزیه خوشه‌ای براساس روش وارد، برای صفات کمی و درصد پروتئین، ارقام را به دو گروه منتسب کرد، به‌طوری‌که ارقام استرالیایی در یک گروه جدا نسبت به سایر ارقام قرار گرفتند. میانگین درصد پروتئین در ارقام استرالیایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ارقام ایرانی بود. تجزیه خوشه‌ای براساس صفات کمی و کیفی و زیرواحدهای گلوتنین، ارقام را در سه گروه منتسب کرد. ارقام گروه سوم شامل سه رقم استرالیایی با امتیاز کیفیت ۱۰ از ۱۰ و هفت رقم رایج کشت ایرانی شامل استار (امتیاز هفت از ۱۰)، بزوستایا، نیک‌نژاد، رسول، اترک (امتیاز نه از ۱۰)، وری‌ناک و زرین (امتیاز ۱۰ از ۱۰) برتر از دو گروه دیگر بودند. براساس تجزیه همبستگی، درصد پروتئین با وزن هزاردانه، ارتفاع سنبلچه و عرض بذر همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. ارتفاع رسوب SDS با وزن هزاردانه همبستگی منفی و معنی‌دار اما با حجم رسوب زلنی و سختی دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. براساس مقایسات میانگین، بهترین ارقام با زیرواحدهای ۱ یا *۲ در مکان ژنی Glu-A1، ۱۶+۱۳ یا ۱۸+۱۷ در مکان ژنی Glu-B1 و ۱۰+۵ در مکان ژنی Glu-D1 انتخاب شدند که بالاترین مقدار پروتئین، ارتفاع رسوب SDS، حجم رسوب زلنی، سختی دانه و کم‌ترین وزن هزاردانه و عرض بذر را داشتند. براساس نتایج این مطالعه می‌توان گفت ارقام استرالیایی با بذر بیشتر، وزن هزاردانه و عرض بذر کمتر، میزان پروتئین بیشتری نسبت به ارقام ایرانی دارند. براساس نتایج الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، ارقام استرالیایی به‌دلیل داشتن زیرواحدهای برتر و صفات کیفی مناسب، نسبت به ارقام ایرانی برتر بودند. لذا بهتر است از ارقام ایرانی زرین، روشن، وری‌ناک، پیشتاز، هامون، هیرمند و شاه‌پسند جهت کشت و تلاقی با ارقام استرالیایی در جهت بهبود صفات کمی و کیفی گندم در برنامه‌های به‌زراعی و به‌نژادی استفاده شود.

کلمات کلیدی: گندم هگزاپلوئید، کیفیت نانوایی، ارتفاع رسوب SDS، HMW-Gs، SDS-PAGE

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه ۱

فصل دوم: کلیات و بررسی منابع

۲-۱- اهمیت گندم ۴

۲-۲- دانه گندم ۵

۲-۳- ترکیب بیوشیمیایی آندوسپرم گندم ۶

۲-۴- بذرها به عنوان منابع پروتئین‌ها ۷

۲-۵- پروتئین‌های ذخیره‌ای ۸

۲-۶- کیفیت در گندم (پروتئین‌های بذر گندم، دلیل خصوصیات استثنایی این گیاه) ۸

۲-۷- عوامل مؤثر در کیفیت و ارزش نانوایی گندم ۹

۲-۷-۱- وزن هزاردانه ۹

۲-۷-۲- وزن حجمی یا وزن واحد حجم ۱۰

۲-۷-۳- اندازه و شکل دانه ۱۰

۲-۷-۴- سختی دانه ۱۰

۲-۷-۵- رنگ ۱۰

۲-۷-۶- مواد خارجی ۱۱

۲-۷-۷- دانه‌های آسیب دیده ۱۱

۲-۷-۸- رطوبت ۱۲

۲-۷-۹- مقدار پروتئین ۱۲

۲-۸- طبقه‌بندی و نام‌گذاری پروتئین‌های بذر ۱۳

۲-۸-۱- گلوتن ۱۴

۲-۸-۲- گلیادین ۱۴

۲-۸-۳- گلوتنین ۱۵

۲-۸-۴- تقسیم‌بندی باندهای پروتئینی در گلوتن ۱۷
۲-۹- عوامل مؤثر بر کمیت و کیفیت گلوتن ۱۸
۲-۹-۱-اثر رقم ۱۸
۲-۹-۲- اثر آب و هوا ۱۸
۲-۹-۳- اثرکود ۱۸
۲-۹-۴- اندازه دانه ۱۹
۲-۱۰- معیار کیفیت براساس گندم نرم و سخت ۱۹
۲-۱۱- الکتروفورز ۱۹
۲-۱۲- نشانگرهای پروتئینی ۲۲
۲-۱۳- مروری بر صفات مؤثر در کیفیت نانوایی گندم ۲۲
۲-۱۴- نگاهی به الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (زیرواحدهای گلوتنین) ۲۶
۲-۱۴-۱- تعداد، نوع و ارتباط زیرواحدهای گلوتنین با سایر صفات کمی و کیفی ۲۶
۲-۱۵- رابطه برخی صفات کمی با میزان پروتئین گندم ۲۹

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- مواد گیاهی ۳۲
۳-۲- مواد شیمیایی و وسایل ۳۲
۳-۳- الکتروفورز ۳۴
۳-۳-۱-۱ محلول آکریلامید ذخیره ۳۴
۳-۳-۱-۲- بافر دارای pH=۸/۸ برای ژل پایین یا ژل جدا کننده ۳۴
۳-۳-۱-۳- بافر دارای pH=۶/۸ برای ژل بالا یا ژل متراکم کننده ۳۴
۳-۳-۱-۴- آمونیوم پرسولفات ۳۴
۳-۳-۱-۵- محلول SDS ۱۰ درصد ۳۵
۳-۳-۱-۶- بافر رانینگ ۳۵
۳-۳-۱-۷- بافر استخراج پروتئین ۳x ۳۵
۳-۳-۱-۸- محلول رنگ‌آمیزی ژل ۳۵

۳-۳-۱-۹- محلول رنگ‌زدایی (Destaining) ۳۵
۳-۳-۲- استخراج پروتئین (گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا) ۳۶
۳-۳-۳-تهیه محلول ژل و ریختن آن در قالب مخصوص ۳۷
۳-۳-۳-۱-ژل پایین ۱۰ درصد ۳۸
۳-۳-۳-۲- ژل بالا ۳۹
۳-۳-۴- تزریق عصاره پروتئین در چاهک‌های ژل ۳۹
۳-۳-۵-انجام الکتروفورز ۴۰
۳-۳-۶-رنگ‌آمیزی ۴۰
۳-۳-۷-رنگ‌بری یا رنگ‌زدایی ۴۱
۳-۴- آزمایشات تعیین کیفیت نانوایی ۴۱
۳-۴-۱- ارتفاع رسوب SDS ۴۱
۳-۴-۱-۱- روش آزمایش ۴۱
۳-۴-۲- آزمون زلنی یا عدد رسوبی ۴۲
۳-۴-۲-۱- اصول آزمایش ۴۲
۳-۴-۲-۲- آماده کردن محلول‌ها ۴۲
۳-۴-۲-۳- روش انجام آزمایش ۴۳
۳-۴-۳- دیگر صفات کیفیت ۴۳
۳-۵- اندازه‌گیری صفات کمی ۴۴
۳-۶- شناسایی زیرواحدهای گلوتنین ۴۴
۳-۷- روش‌های آماری ۴۵

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- تجزیه واریانس صفات کمی ۴۶
۴-۲- مقایسه میانگین صفات کمی ۴۶
۴-۳- تجزیه کلاستر (خوشه‌ای) براساس صفات کمی و درصد پروتئین ۴۹
۴-۴- رگرسیون گام به گام برای صفات کمّی ۵۱
۴-۵- بررسی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا ۵۲
۴-۶- بررسی تنوع ژنتیکی ۵۸
۴-۷- تجزیه خوشه‌ای براساس نشانگرهای پروتئینی ۵۹
۴-۸- تجزیه همبستگی ۶۱
۴-۸-۱- همبستگی صفات کمی و کیفی با درصد پروتئین ۶۱
۴-۸-۲- همبستگی بین صفات کمی و سایر صفات کیفی ۶۳
۴-۸-۳- همبستگی بین زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا و صفات کمی و کیفی ۶۳
۴-۹- تجزیه واریانس زیرواحدهای گلوتنین ۶۸
۴-۹-۱- میانگین درصد پروتئین در زیرواحدهای گلوتنین ۷۰
۴-۹-۲- میانگین ارتفاع رسوب SDS در زیرواحدهای گلوتنین ۷۱
۴-۹-۳- میانگین حجم رسوب زلنی در زیرواحدهای گلوتنین ۷۲
۴-۹-۴- میانگین سختی دانه در زیرواحدهای گلوتنین ۷۳
۴-۹-۵- میانگین وزن هزاردانه در زیرواحدهای گلوتنین ۷۴
۴-۱۰- نتیجه‌گیری ۷۵
۴-۱۱- پیشنهادات ۷۷

فصل پنجم: فهرست منابع

۵-۱- فهرست منابع ۷۸
پیوست‌ها ۸۹
چکیده انگلیسی ۹۱

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- اجزای سازنده دانه گندم ۶

جدول ۳-۱- فرمول شیمیایی و شرکت سازنده مواد شیمیایی مورد نیاز..... ۳۳

جدول ۳-۲- محلول‌های مورد نیاز (بافر نمونه) در استخراج پروتئین بر حسب میلی‌لیتر ۳۷

جدول ۳-۳- محلول‌های مورد نیاز ژل پایین..... ۳۸

جدول ۳-۴- محلول‌های مورد نیاز ژل بالا ۳۹

جدول ۳-۵- کیفیت نانوایی گندم براساس حجم رسوب زلنی..... ۴۳

جدول ۲-۱- امتیاز بندی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا به روش پین ولاورنس..... ۴۴

جدول۴-۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات کمی ۲۵ رقم گندم نان..... ۴۷

جدول ۴-۲- مقایسه میانگین صفات کمی ارقام مورد مطالعه..... ۴۷

ادامه جدول ۴-۲- مقایسه میانگین صفات کمی ارقام مورد مطالعه..... ۴۸

جدول ۴-۳- تجزیه واریانس صفات مختلف در دو گروه از نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای..... ۴۹

جدول۴-۴- مقایسه میانگین صفات مختلف در دو گروه ارقام ایرانی و استرالیایی (نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای)..... ۵۱

جدول۴-۵- تجزیه واریانس رگرسیون برای درصد پروتئین و صفات کمی..... ۵۱

جدول ۴-۶- نوع، تعداد و فراوانی نسبی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در ارقام گندم..... ۵۳

جدول۴-۷- ژنوتیپ زیرواحدهای گلوتنین سنگین، امتیازهای آللی و کیفیت ارقام مورد بررسی ۵۷

جدول ۴-۸- نوع، تعداد، فراوانی آلل شایع، تنوع ژنتیکی در مکان‌های ژنی Glu-1..... ۵۸

جدول۴-۹- همبستگی ساده بین صفات کمی با صفات کیفیت نانوایی در ارقام مورد مطالعه گندم..... ۶۶

جدول۴-۱۰- همبستگی ساده بین زیرواحدهای گلوتنین سنگین با صفات کمی و کیفی.....۶۷

جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در مکان‌های ژنی مختلف برای صفات مورد مطالعه.....۶۹

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- مقایسه عملکرد گندم ایران و جهان در طی سال‌های ۱۹۹۵ تا ۲۰۱۲ .....۴

شکل ۲-۲- نام‌گذاری زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در مکان‌های ژنی Glu-1 .....۱۷

شکل۴-۱-دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای براساس درصد پروتئین و صفات کمی اندازه‌گیری شده..۵۰

شکل۴-۲- الگوی الکتروفورزی زیرواحدهای گلوتنین سنگین با روش SDS-PAGE.....۵۴

شکل ۴-۳- فراوانی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در ارقام مورد مطالعه.....۵۵

شکل۴-۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای براساس گلوتنین‌های سنگین در ارقام مورد مطالعه.....۶۰

شکل ۴-۵- تأثیر زیرواحدهای گلوتنین سنگین در مکان‌های ژنی Glu-1 بر روی میانگین درصد پروتئین ۷۰

شکل ۴-۶- تأثیر زیرواحدهای گلوتنین سنگین در مکان‌های ژنی Glu-1 بر روی میانگین ارتفاع رسوب SDS ۷۱

شکل ۴-۷- تأثیر زیرواحدهای گلوتنین سنگین در مکان‌های ژنی Glu-1 بر روی میانگین حجم رسوب زلنی.....۷۲

شکل ۴-۸- تأثیر زیرواحدهای گلوتنین سنگین در مکان‌های ژنی Glu-1 بر روی میانگین سختی دانه....۷۳

شکل ۴-۹- تأثیر زیرواحدهای گلوتنین سنگین در مکان‌های ژنی Glu-1 بر روی میانگین وزن هزاردانه..۷۴

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

امنیت غذایی[1] به‌صورت یک نظریه و روش مدون برای اولین بار در کنفرانس بین المللی تغذیه در سال ۱۹۹۲ مطرح شد و به‌عنوان یکی از استراتژی‌های مهم در برخورد با سوء تغذیه، گرسنگی و امنیت غذایی خانوار مورد تأکید و تصویب قرار گرفت (نوری نایینی، ۱۳۷۸). براساس تعریف شورای جهانی غذا (WFC)[2] امنیت غذایی بر دو محور اشاره دارد: ۱- غذا به مقدار کافی و کیفیت مناسب در هر زمان و هر مکان مورد نیاز، در دسترس و قابل تهیه باشد. ۲- وجود ضمانتی‌که این وضع استمرار یابد (دینی ترکمان، ۱۳۸۳). امنیت غذایی یکی از اولویت‌های نظام جمهوری اسلامی ایران است و تولید گندم هم‌معنی با امنیت غذایی در کشور است. ارتقاء کیفیت گندم نیز سهم بسزایی در جهت امنیت غذایی و همچنین تولید نان با کیفیت بالا و بدون ضایعات ایفا می‌کند، بنابراین علاوه بر توجه به تولید ارقام دارای عملکرد بالا بایستی بالا بودن کیفیت نانوایی آن‌ها نیز مورد توجه قرار گیرد. در این راستا، آرد گندم به عنوان ماده اولیه بایستی از نظر خصوصیات نانوایی از کیفیت بالایی برخوردار باشند. در نتیجه تولید و معرفی ارقام با کیفیت نانوایی بالا می‌تواند با کاهش ضایعات نان، از هدررفت سرمایه‌های ملی جلوگیری نماید و به‌خاطر منافع ملی و قطع وابستگی غذایی و همگانی بودن مصرف گندم در سطح کشور، نیل به خودکفایی آن بایستی سرلوحه برنامه‌های توسعه کشور قرار گیرد (متقی، ۱۳۸۷).

گندم (*Triticum aestivum* L.) در دنیا بالاترین سطح زیر کشت و تولید را به‌عنوان یک محصول کشاورزی به‌خود اختصاص داده است. این محصول در الگوی غذایی سه‌چهارم جمعیت جهان جایگاه و محبوبیت خاصی دارد و پیش‌بینی می‌شود در آینده نیز این نقش همچنان حفظ گردد. جمعیت ایران نیز علی‌رغم این‌که حدود یک درصد جمعیت جهان را تشکیل می‌دهد ولی حدود ۲/۵ درصد گندم جهان را

1. Food Security
2. World Food Council

مصرف می‌کند که بیش از سطوح استاندارد بین‌المللی است، درنتیجه این واقعیت موجب شده تا بیشترین سطح زیر کشت اراضی زراعی کشور به گندم اختصاص یابد (علی‌بیگی، ۱۳۸۳).

عمده مصرف گندم به‌عنوان مهم‌ترین محصول زراعی به صورت نان است که کیفیت مطلوب آن از نظر طعم و مزه و طول مدت نگهداری و کاهش ضایعات، اهمیت بسزایی دارد. کیفیت نانوایی علاوه بر ساختار ژنتیکی دانه، تحت تأثیر مجموعه‌ای از اثرات خاک، آب، هوا، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر و ترکیبات دانه است (اکبری راد و همکاران، ۱۳۸۹). نقش پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، در تعیین کیفیت آرد و پخت نان و ماکارونی در ارقام گندم تجارتی می‌باشد. گلیادین و گلوتنین از تعداد زیادی اسیدآمینه تشکیل شده‌اند که بیشتر مقدار آن، اسید گلوتامیک می‌باشد و با آب تشکیل کمپلکسی به نام گلوتن می‌دهد. پروتئین‌های گلوتن شامل گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها است و نزدیک به هشت درصد پروتئین دانه گندم را این دو جزء تشکیل می‌دهند. گلوتنین‌ها یک گروه ناهمگون از پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه هستند که چند زنجیره‌ای بوده و زیرواحدهای آن‌ها به وسیله‌ی پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی و درون مولکولی به یکدیگر متصل هستند. این زیرواحدها در هنگام مطالعه با الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید با سدیم دودسیل سولفات[1]، با شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی از یکدیگر جدا می‌شوند و در ژل پلی اکریل‌آمید در دو گروه، زیر واحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی سنگین[2] و زیر واحدهای گلوتنین سبک[3] تقسیم می‌شوند. این پروتئین‌ها نقش اصلی را در کیفیت آرد و پخت نان دارند. در واقع پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مسئول خواص منحصر به‌فرد چسبندگی و قابلیت ارتجاع در خمیر آرد گندم هستند (برنالد و همکاران، ۲۰۰۱).

گسترده‌ترین تکنیک برای توصیف بیوشیمیایی جمعیت‌های گیاهی، روش‌های الکتروفورز پروتئین با استفاده از نشانگرهای بیوشیمیایی است. معمول‌ترین نوع نشانگرهای پروتئینی آیزوزایم[4]ها هستند که اشکال مختلف یک آنزیم را نشان می‌دهند. نشانگرهای پروتئینی تغییرات را در سطح ردیف و عمل ژن به‌صورت نشانگرهای همبارز نشان می‌دهند و از معایب این نشانگرها محدود بودن آن‌ها است. بررسی این نشانگرها از طریق الکتروفورز افقی ژل نشاسته به دلیل مزیت‌های بسیار همچون سرعت، سادگی و هزینه

1. sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)
2. High Molecular Weight Glutenin subunits (HMW-Gs)
3. Low Molecular Weight Glutenin subunits (LMW-Gs)
4. Isozyme

نسبتاً کم به‌طور وسیع برای ارزیابی تنوع و طبقه‌بندی گیاهان به‌کار می‌روند (کفارت، ۱۹۹۹). در بذر گندم گلوتنین‌های سنگین و سبک مانند نشانگرهای آیزوزایم عمل می‌کنند، همچنین این نشانگرها (پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه) به‌عنوان نشانگرهای پروتئینی جهت شناسایی و جداسازی ارقام، چند شکلی، تنوع گونه‌ای، انتخاب ارقام مناسب از لحاظ صفات برتر با توجه به الگوهای باندی پروتئین‌های حاصل از الکتروفورز استفاده می‌شود (لایماری و همکاران، ۱۹۹۶).

تنوعی که در انواع گلوتنین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم وجود دارد باعث شده تا محققین در جستجوی یافتن رابطه آن با کیفیت نانوایی برآیند تا بتوانند در کنار روش‌های تعیین کیفیت نانوایی نظیر آزمایش رسوب زلنی و رسوب SDS، ارزش نانوایی گندم را پیش‌بینی کنند (حق پرست و همکاران، ۱۳۸۸).

امروزه به‌خوبی مشخص شده است که تنوع و چندشکلی در میزان و نوع پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مسئول تفاوت‌های موجود در ارقام مختلف گندم‌های تجارتی از نظر کیفیت و خواص غذایی آرد است، بنابراین در برنامه‌های به‌زراعی و به‌نژادی کیفیت گندم، از پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به‌عنوان یک شاخص کلیدی و ارزشمند استفاده می‌شود (احمد و همکاران، ۱۹۹۸). ارتباط زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا با خواص تکنولوژیک آرد و پخت نان در گندم‌های هگزاپلوئید توسط محققین زیادی گزارش شده است. با توجه به این که در این زیرواحدها، آلل‌های دارای تاثیر مطلوب بر کیفیت نانوایی دارای نوع عمل افزایشی هستند، پین و لاورنس (۱۹۸۳) سیستم امتیازدهی ساده‌ای را طراحی کردند و به هریک از زیرواحدها براساس تأثیر بر ارتفاع رسوب SDS یک ارزش عددی اختصاص دادند (جدول ۳-۶). در این روش حداکثر امتیاز یک ژنوتیپ برابر ۱۰ می‌باشد و می‌توان کیفیت کلی یک رقم را با این روش تخمین زد. به‌طورکلی واریته‌های مدرن کنونی هرچند نسبت به اجداد خود دارای عملکرد بالاتری هستند ولی کیفیت پخت آن‌ها کاهش یافته است. درصورتی‌که تمایل بر این است که این کاهش درصد پروتئین به افزایش زیاد زیست‌توده دانه به‌همراه افزایش ناچیز تجمع نیتروژن نسبت داده شود و جهت گزینش ارقام با کیفیت از لحاظ نانوایی در برنامه‌های به‌زراعی و به‌نژادی تلاش شود (سوفی زاده و همکاران، ۲۰۰۶). لذا این تحقیق برای رسیدن به اهداف زیر اجرا گردید:

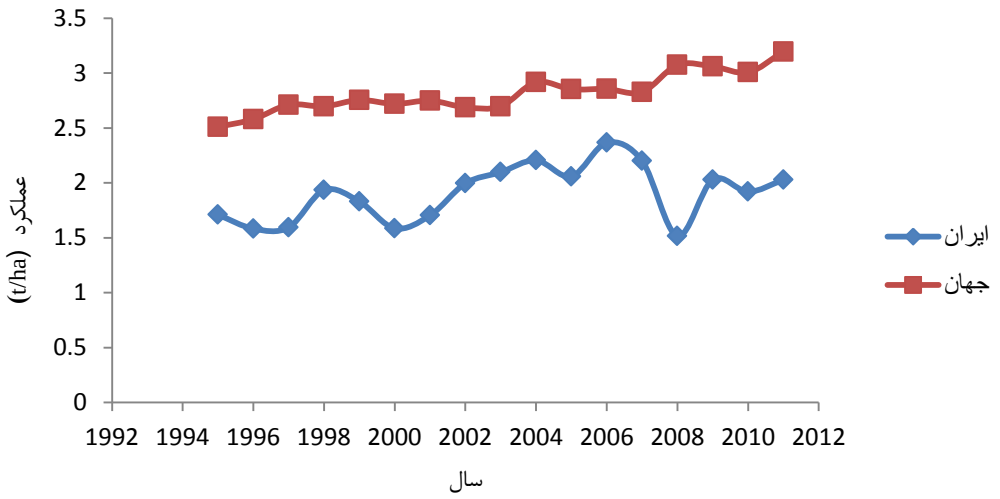
- مقایسه ارقام مورد مطالعه از نظر کمیت و کیفیت پروتئین دانه در جهت افزایش کیفیت نانوایی
- انتخاب ارقام مناسب از لحاظ کیفیت پروتئین براساس گلوتنین‌های دارای وزن مولکولی بالا جهت کشت در بیرجند و شرایط آب و هوایی مشابه.

فصل دوم

کلیات و مرور منابع

۲-۱- اهمیت گندم

افزایش عملکرد گیاهان زراعی یکی از اهداف مهم امروزی برای هماهنگی با افزایش جمعیت جهان است. جمعیت جهان با نرخ رشد ۱/۶ تا ۱/۷ درصد در حال افزایش است و همه ساله ۹۵ میلیون نفر به مصرف‌کنندگان محصولات کشاورزی افزوده می‌شود، به‌طوری که شائو و همکاران (۲۰۰۵) بیان کرده‌اند که یکی از راه‌های تأمین نیاز غذایی جمعیت درحال افزایش کشور و جهان افزایش تولید محصولات کشاورزی است و بایستی تا سال ۲۰۲۰ میلادی عملکرد گندم هر ساله در حدود ۱/۶ درصد افزایش یابد. فرآورده‌های گندم در الگوی غذایی مردم ایران از اهمیت زیادی برخوردار است، به‌طوری‌که ۴۰ تا ۴۵ درصد کالری و حدود ۵۰ درصد پروتئین مورد نیاز روزانه هر فرد را تأمین می‌نماید (ایران‌نژاد و شهبازیان، ۲۰۰۵). به‌طورکلی میزان عملکرد گندم در کشور ما نسبت به متوسط جهانی در سطح پایین‌تری قرار دارد و در طی سال‌های اخیر (۲۰۰۸ تا ۲۰۱۱) در حال نوسان بوده است (شکل۲-۱). رسیدن به این سطح و افزایش آن، نیازمند مدیریت و برنامه‌ریزی دقیق جهت بهره‌برداری مناسب از ژرم‌پلاسم موجود است. مهم‌ترین بخش این مدیریت، تولید ارقامی با پتانسیل بالا از لحاظ عملکرد دانه، عملکرد پروتئین و سازگار با شرایط مختلف محیطی است و اولین گام در هر برنامه اصلاحی، ارزیابی صفات کمی و کیفی و تعیین سطح تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم موجود می‌باشد تا با تلاقی‌های مناسب و اعمال روش‌های گزینشی مطلوب دستیابی به اهداف مورد نظر حاصل گردد.



شکل ۲-۱- مقایسه عملکرد گندم ایران و جهان در طی سال‌های ۱۹۹۵ تا ۲۰۱۲ (فائو، ۲۰۱۲)

۲-۲- دانه گندم

دانه گندم، گندمه (کاریوپس[1]) می‌باشد و پوست دانه آن‌را احاطه نموده است (حیدری شریف‌آباد، ۱۳۷۹). دانه گندم به شکل‌های بیضی، گرد، تخم مرغی و بیضی دراز می‌باشد، قسمت پشت دانه گندم بدون شیار و مدور و قسمت شکم شیاردار می‌باشد. شیار شکمی در تمام طول دانه امتداد دارد. طول دانه بین ۴ تا ۱۲ میلی‌متر و ضخامت آن بین ۱/۵ تا ۴ میلی‌متر متغیر است که حدود ۳/۵ درصد آن‌را جنین، ۹ تا ۱۰ درصد آن‌را پوسته، ۸۵ تا ۸۶ درصد آن‌را آندوسپرم و ۳ تا ۴ درصد آن‌را لایه آلورون تشکیل می-دهد (راشد محصل و همکاران، ۱۳۷۶). آندوسپرم بزرگترین بخش دانه می‌باشد که عمدتاً شامل پروتئین و نشاسته است. در انتهای دانه گندم کرک‌های ضعیفی وجود دارد، رنگ دانه‌ها سفید متمایل به خاکستری، زرد، قرمز روشن و قرمز تیره می‌باشد و وزن هزاردانه گندم بین ۱۵ تا ۶۰ گرم متغیر است (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۸۶).

نشاسته در آندوسپرم در دو حالت گرانولی ذخیره می‌شود: گرانول‌های بزرگ A و گرانول‌های کوچک B. آندوسپرم همچنین حاوی یک ماتریکس پروتئین ذخیره‌ای ساخته شده از اجسام پروتئینی است که با واکوئل‌ها در سلول‌های آندوسپرمی در طی مراحل نمو ادغام می‌شوند. هنگامی که بذر نمو یافته و بلوغ پیدا می‌کند، رسوب مداوم ذخایر آندوسپرمی به‌دنبال از دست دادن آب، باعث خسارت غشای اجسام پروتئینی اصلی شده و یک تلغیظ پروتئین در ماتریکس زمینه‌ای اطراف دانه‌های نشاسته در آندوسپرم بالغ صورت می‌گیرد (ایوانز، ۱۹۹۹).

هرچند گندم مصارف بسیاری دارد، ریشه‌ی اصلی عامه پسندی آن به‌دلیل ظرفیتش برای تولید نان است. در مراحل فرآوری، محتویات گندم در کیفیت آرد تولیدی بسیار مهم هستند. پس ساختمان و ترکیب دانه گندم در تولید یک نان خوب بسیار مؤثر است. گاهی به اشتباه می‌گوییم بذر، اما در واقع دانه گندم یک میوه است و بذر توسط پریکارپ میوه پوشانده شده است. بذر از یک جنین، حاوی اسکوتلوم و یک محور جنینی تشکیل شده است. طبق گفته میلر (۱۹۹۸) گیاهچه به تمام قسمت‌های جنین گفته می‌شود. پریکارپ از دیواره‌ی تخمدان مشتق می‌شود و همراه با پوشش بذر و لایه آلئورن قسمتی را تشکیل می‌دهد که میلر به‌آن پوسته گندم یا سبوس می‌گوید. پریکارپ از سلول‌هایی تشکیل شده که سیتوپلاسم خود را از دست می‌دهند و هنگامی که دانه‌ها بالغ می‌شوند، پریکارپ یک دیواره لیگنینی به

1. Cariopsis