ارزیابی تنوع آللی زیر واحدهای گلوتنین وزن مولکولی بالا با روش SDS-PAGE در ارقام و لاین‌های امید بخش گندم دیم

فرشته درخشان[۱]، صابر گلکاری*[۲]، بهزاد صادق زاده[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، مراغه، ایران

۲- موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول مکاتبه: *s.golkari@areeo.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳خرداد ۱۳۹۶، تاریخ بازنگری: ۰۱ مرداد ۱۳۹۶، تاریخ پذیرش: ۲۶ شهریور ۱۳۹۶

چکیده

به منظورارزیابی تنوع آللی زیرواحدهای گلوتنین در تخمین کیفیت نانوایی در ارقام و لاین های امید بخش گندم نان دیم، ۲۹ ژنوتیپ گندم دیم، با روش SDS-PAGE مورد مطالعه قرار گرفتند. بر اساس الگوی باندی پروتئین‌های گلوتنین در جایگاه ژنیGlu-A1، ژنوتیپ های Karim، Rasad، Ohadi، Sabalan ، ۳ ،۴، ۵، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۴، ۱۷، ۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲۳و ۲۴ آلل ۱، در ژنوتیپ‌های ۶، ۷، ۱۲، ۱۳، ۱۶، ۲۰، Homa و Rijaw آلل *۲ همچنین در ژنوتیپ‌های ۱۶، ۱۸ و Azar2 آلل نول مشاهده شد. در جایگاه GLU-B1 ژنوتیپ‌های Ohadi، Rijaw ، ۵، ۹، ۱۳، ۱۶، و ۲۱ آلل ۹+۷، در ژنوتیپ‌های Azar2، Homa، Karim، Rasad ، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۹، ۲۰، ۲۱ آلل ۸+۷، در ژنوتیپ‌های Sabalan، ۳، ۴، ۶، ۱۱، ۱۸و۲۴ آلل ۱۸+۱۷ و در ژنوتیپهای، ۱۴، ۱۵، ۱۷ و ۲۳ آلل ۱۶+۱۳ شناسایی شد. در جایگاه GLU-D1 ژنوتیپ‌های Ohadi، Rijaw ، Karim ، ۵، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۲ و ۲۳ آلل ۱۰+۵ و در ژنوتیپ‌های Azar2، Sabalan، Rasad ، ۳، ۴، ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱ و۲۴ آلل ۱۲+۲ مشاهده شد. همبستگی بین صفت درصد پروتئین دانه با عدد زلنی مثبت و معنی دار و همبستگی درصد پروتئین دانه با میزان نشاسته منفی و معنی داری بود. براساس تجزیه به عامل ها دو عامل اول ۷۲/۸ درصد تغییرات را توجیه کردند. بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام، ارتباط بین آلل نول و سختی دانه و همچنین ارتباط بین آلل ۹+۷ و صفت عدد زلنی معنی دار بود.

کلمات کلیدی: *کیفیت آرد گندم؛ گلوتنین؛ HMW-GS؛ SDS-PAGE*

مقدمه

گندم معمولی (*T. aestivum*) با بیش از ۹۵ درصد تولید جهانی، بیشترین مصرف را در نان دارد و نقش مهمی در تغذیه انسان‌ها دارد، بنابراین بهبود کیفیت نانوائی گندم از اهمیت بالایی برخوردار است (Duveiller *et al.,* 2007). افزایش کیفیت نانوایی گندم به عنوان یکی از اهداف اصلاحی همواره مورد توجه بسیاری از محققان بوده است. یکی از خصوصیات کیفی مورد توجه در اصلاح گندم، کیفیت پروتئین های ذخیره‌ای است، پروتئین‌های ذخیره‌ای خاصیت الاستیسیتی، کشسانی و چسبندگی خمیر نان را باعث می‌شوند (Delcour *et al.,* 2012). این پروتئین‌ها به دو دسته گلوتن و غیر گلوتن تقسیم‌بندی می‌شوند. کیفیت خمیر نان به کیفیت و کمیت گلوتن بستگی دارد. گلوتن ۸۵ درصد از پروتئین ذخیره آندوسپرم را تشکیل می‌دهد که شامل گلیادین‌ها و گلوتنین‌ها است (D`ovidio and Masci, 2004). گلوتنین به صورت چندزنجیره‌ای و گلیادین به صورت تک زنجیره‌ای هستند (D`ovidio *et al.,* 1998). گلوتنین به لحاظ مولکولی به ۲ گروه گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS)[1] و گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS)[2] تقسیم بندی می‌شوند. اگر چه HMW-GS ۱۰ درصد پروتئین‌های ذخیره‌ای را تشکیل می‌دهند و میزان آن از LMW-GS (۴۰ درصد پروتئین‌های ذخیره‌ای) کمتر است اما تاثیر بیشتری بر روی خاصیت نانوایی گندم دارند (Payne *et al.*, 1984). HMW-GS برای الاستیسیته گلوتن و کیفیت پخت نان و کیفیت پخت ماکارونی آرد گندم ضروری هستند (Payne *et al.,* 1984). پروتئین‌های گلوتنین در خمیر به‌واسطه پیوندهای کوالانسی بین اسیدهای آمینه سیستئین در HMW-GS و LMW-GS خواص کیفی خمیر نان را باعث می‌شوند. HMW-GS توسط ژن Glu-1 با مکان‌های ژنی Glu-A1، Glu-B1 و Glu-D1 که بر روی بازوی بلند کروموزوم‌های 1D، 1B و 1A قرار دارند کد می‌شوند (Masci *et al.,* 1998; Johal *et al.,* 2004)، مکان Glu-1 سهم مهمی (۵۰ تا ۷۰ درصد) از تغییرات در کیفیت نانوایی گندم‌های بسیاری از کشورها را توجیه می‌کند (MacRitchie, 1987). که هر مکان شامل دو ژن کد کننده برای تیپ زیر واحدی نوع X و تیپ زیر واحدی نوع Y می باشد (Shewry *et al.,* 1992)، بدلیل اینکه این دو زیر واحد (X و Y) ممکن است که در مکان ژنی Glu-1 تظاهر نیابند (برای مثال، در مکان Glu-A1 ممکن است تیپ Y و یا هر دو تیپ X و Y بیان نشوند)، لذا در واریته های گندم ۳ تا ۵ زیر واحد مشاهده می گردد.

آلل‌های هر کدام از این مکان‌های ژنی ارزش و امتیاز کیفی خاصی در بهبود کیفیت نهایی دارد، به نحوی که در مکان ژنی Glu-D1 زیرواحدهای ۱۰+۵ ارزش بیشتری از زیر واحد ۱۲+۲ دارند (Payne *et al.,* 1981; Gupta *et al.,* 1993). در مکان ژنی Glu-B1 زیر واحد ۸+۷ در مقایسه با زیر واحد ۹+۷ با قدرت خمیر بالاتر ارتباط بیشتری دارند (Perron *et al.,* 1998). در مکان ژنی Glu-A1 زیرواحدهای ۱ و *۲ و در مکان ژنی Glu-D1 زیرواحد ۱۰+۵ دارای ارزش بیشتر از لحاظ کیفیت نانوایی نسبت به سایر زیرواحدهای موجود در این مکان‌های ژنی هستند (Najafiyan *et al.,*1997). یکی از روش های شناسایی آلل‌ها و تنوع در پروتئین‌ها، انجام الکتروفورز می باشد. شناسایی حضور یک

1- High-Molecular Weight Glutenin Subunits

2- Low-Molecular Weight Glutenin Subunits

جفت آلل در یک ژنوتیپ در سطح پروتئین معمولا به وسیله‌ی مهاجرت نسبی گلوتن (زیر واحدهای HMW-GS و LMW-GS) در الکتروفورز ژل سدیم دو دسیل سولفات پلی آکریلامید[3] انجام می‌شود. این تکنیک استفاده‌ی گسترده‌ای برای شناسایی HMW-GS و مطالعه‌ی اثر آنها بر کیفیت نان دارد (Delcour *et al.,* 2012). در زمینه بررسی ویژگی‌های مرتبط با کیفیت نانوایی گندم، استفاده گسترده الکتروفورز ژل سدیم دو دسیل سولفات پلی اکریلامید (SDS-PAGE) برای شناسایی آلل‌های HMW-GS (Mottaghi *et al.,* 2009; Haghparast *et al.,* 2009; Nabovvati *et al.,* 2010; Akbari Rad *et al.,* 2010; Ram, 2003., Singh *et al.,* 2007; Meng and Liu) LMW-GS و (Cai, 2008; Yang *et al.,* 2010 *et al.,* 2010; Ribeiro *et al.,* 2011) و اثرات آنها بر کیفیت نان مطالعات زیادی انجام شده است. در مطالعه بر روی ۴۰ لاین گندم سینتیتک با منشاء مکزیک و ۴۰ لاین بومی ایرانی برای شناسایی HMW-GS که توسط روش SDS- PAGE انجام شد، بیشترین اثر مثبت برای آلل‌های *۲، ۱۰+۵ و ۱۸+۱۷ بر روی کیفیت نانوایی گندم گزارش شد است (Fatehi *et al.,* 2008). همچنین در مطالعه دیگری کیفیت نانوایی ۳۲ رقم تجاری گندم ایرانی با شناسایی HMW-GS توسط روش SDS- PAGE ارزیابی شد، گندم‌های تجاری ایرانی به لحاظ کیفی در ۳ دسته قرار گرفتند و آلل‌های *۲، ۱۰+۵ و ۱۸+۱۷ تاثیر زیادی بر روی افزایش کیفیت داشتند، همچنین گزارش شد که صفات پروتئین، میزان جذب آب، سختی دانه و حجم رسوب SDS برای انتخاب لاین‌های با افزایش کیفیت بالا می‌تواند مناسب باشد (Mehrazar *et al.,* 2013).

3- SDS-PAGE

علاوه بر محتوی گلوتن (Gupta *et al.,* 1993)، گلوتنین با وزن مولکولی بالا (Payne *et al.,* 1983)، محتوی پروتئین کل، سختی دانه (Gupta *et al.,* 1993)، نشاسته (Najafian and Baghaie, 2011) و عدد زلنی (Bucsella *et al.,* 2016; Izanloo *et al.,* 2016) نیز برای برآورد میزان کیفیت نانوایی آرد گندم استفاده شده است. به طوری که در تحقیقات زیادی همبستگی مثبت و معنی‌دار، محتوی پروتئین کل، سختی دانه و عدد زلنی (Fowler, 1990; Rozbicki *et al.,* 2015; Carson and Edwards, 2009; Yong *et al.,* 2004; Bonafede *et al.,* 2016) گزارش شده است. بهبود کیفیت نانوائی گندم از طریق روش‌های اصلاحی سنتی و آزمایش‌های غیر مستقیم زمان‌بر بوده و هزینه‌ی بالایی لازم دارد. استفاده از مارکرهای پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم می‌توانند جایگزین خوبی برای بهبود صفات کیفی دانه باشند (Afshan and Naqvi, 2011; Shahinnia *et al.,* 2002; Meng and Cai, 2008; Rajabihashtjin *et al.,* 2013).

مواد و روش ها

در این مطالعه تعداد ۲۲ لاین امید بخش گندم شرکت کننده در آزمایش یکنواخت سازگاری اقلیم سردسیر و معتدل سرد کشور (منشا دیم کشور) (19thERWYT)، ۷ رقم تجاری گندم دیم آذر۲، اوحدی، رصد، سبلان، کریم، ریژاو و هما با منشا دیم کشور مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). صفات مرتبط با کیفیت دانه شامل میزان پروتئین دانه، عدد زلنی، میزان نشاسته، سختی دانه و رطوبت دانه با دستگاه NIR (Nuclear Infra Red) بررسی شدند (جدول ۳). ارقام با روش الکتروفورز SDS-PAGE از نظر تنوع آللی مکان‌های ژنی Glu-A1،

جدول ۱- ارقام، ژنوتیپ‌ها و زیرواحدهای HMW-GS ارقام مختلف گندم مورد مطالعه

Table1- cultivars, genotypes and HMW-GS in studied wheat

امتیاز نانوایی Bakery value	Glu-D1		Glu-B1		Glu-A1	نام رقم Cultivar name	شماره ژنوتیپ Genotypes N.o
	Y	X	Y	X			
9=4+2+3	10	5	9	7	1	Ohadi	1
6=2+3+1	12	2	2	7	نول	Azar2	2
8=2+3+3	12	2	18	17	1	19th ERWYT-3	3
8=2+3+3	12	2	18	17	1	19th ERWYT-4	4
7=2+2+3	10	5	9	7	1	19th ERWYT-5	5
10=4+3+3	12	2	18	17	2*	19th ERWYT-6	6
10=4+3+3	12	2	8	7	2*	19th ERWYT-7	7
10=4+3+3	12	2	8	7	1	19th ERWYT-8	8
8=2+3+3	10	5	9	7	1	19th ERWYT-9	9
10=4+3+3	12	2	8	7	1	19th ERWYT-10	10
8=2+3+3	10	5	18	17	1	19th ERWYT-11	11
10=4+3+3	12	2	8	7	2*	19th ERWYT-12	12
7=2+2+3	10	5	9	7	2*	19th ERWYT-13	13
8=2+3+3	10	5	16	13	1	19th ERWYT-14	14
6=2+3+1	10	5	16	13	نول	19th ERWYT-15	15
9=4+2+3	12	2	9	7	2*	19th ERWYT-16	16
10=4+3+3	12	2	16	13	1	19th ERWYT-17	17
8=4+3+1	12	2	18	17	نول	19th ERWYT-18	18
10=4+3+3	12	2	8	7	1	19th ERWYT-19	19
10=4+3+3	12	2	8	7	2*	19th ERWYT-20	20
9=4+2+3	12	2	9	7	1	19th ERWYT-21	21
8=2+3+3	10	5	8	7	1	19th ERWYT-22	22
8=2+3+3	10	5	16	13	1	19th ERWYT-23	23
10=4+3+3	12	2	18	17	1	19th ERWYT-24	24
10=4+3+3	12	2	18	17	1	Sabalan	25
8=2+3+3	10	5	8	7	2*	Homa	26
7=2+2+3	10	5	9	7	2*	Rijaw	27
8=2+3+3	10	5	8	7	1	Karim	28
10=4+3+3	12	2	8	7	1	Rasad	29

Glu-D1 Glu-B1 بررسی شدند. در این بررسی از روش استخراج Singh *et al.,* 1991 و همکاران، ۱۹۹۱ به همراه تغییرات اعمال شده Izadi Darbandi و همکاران ۲۰۱۰ استفاده شد. که در آن از ژل‌های شیب‌های غلظت (۱۲/۵-۸/۱ درصد پلی آکریلامید) استفاده شد. نام‌گذاری HMW-Gs با مدل جهانی پین و لاورنس (Payne and Lawrence, 1983) انجام شد. همبستگی بین صفات به روش اسپیرمن انجام شد (جدول ۴) و جهت شناسایی ارتباط بین صفات کیفی و ملکولی از روش تجزیه رگرسیون گام به گام استفاده شد (جدول ۷).

نتایج و بحث

بر اساس الگوی باندی زیرواحدهای سنگین

جدول ۲- فراوانی آلل های پروتئین گلوتنین در ژنوتیپ‌ها و ارقام گندم مورد ارزیابی

Table2- Glutenin allelic frequency in cultivars and genotypes studied

جایگاه ژنی Locuese	آلل Alleles	تعداد ژنوتیپ Number of genotypes	فراوانی Frequency	درصد پروتئین Protein percentage	عدد زلنی Zeleny number	میزان نشاسته Starch percentage
Glu-A1	1	18	62.1	11.12[a]	47.20[a]	67.75[b]
	2*	7	27.6	11.87[a]	51.40[a]	67.16[b]
	نول	4	10.3	10.14[a]	38.25[a]	71.57[a]
Glu-B1	7+8	10	34.5	11.58[a]	67.08[a]	50.55[ab]
	7+9	8	27.6	10.30[a]	68.80[a]	38.38[b]
	17+18	7	24.1	11.90[a]	67.35[a]	53.75[a]
	13+16	4	13.8	11[a]	69.68[a]	46.93[ab]
Glu-D1	5+10	12	41.4	10.73[a]	42.52[a]	68.21[a]
	2+12	17	58.6	11.57[a]	50.91[a]	67.82[a]

جدول۳- صفات کیفی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌ها و ارقام گندم

Table3- studied quality trait in genotypes and cultivars

درصد رطوبت Seed Moisture	سختی دانه Seed Hardness	نشاسته Starch	عدد زلنی Zelny number	درصدپروتئین Protein%	شمارهژنوتیپ Genotypes No
8.12 [fj]	61.25 [ei]	69.55 [bc]	36.50 [il]	9.68 [jkl]	1
7.97 [klm]	58.25 [Ik]	69.40 [bc]	34 [jkl]	9.67 [jkl]	2
8.07 [hl]	60 [ek]	69.85 [bc]	24.78 [lmn]	8.89 [lm]	3
8.65 [b]	58 [Jk]	63.60 [fg]	80.50 [a]	15.19 [a]	4
8.12 [fj]	60 [cj]	71.70 [b]	22 [n]	8.20[m]	5
7.95 l[mn]	60.25 [ek]	66.1 [cg]	63 [bc]	13.03 [bc]	6
8.15 [fi]	62.25 [ag]	67.6 [bf]	56 [cd]	12.11 [cde]	7
8.22 [dg]	62 [bh]	67.57 [bcd]	55 [cd]	12.09 [cde]	8
8.10 [gk]	59 [gk]	68.97 [bf]	37.22 [hl]	9.93 [ijk]	9
8.42 [c]	64.25 [ac]	69.62 [bc]	48.05 [dg]	11.28 [dg]	10
8.27 [de]	62 [bh]	67.52 [bf]	55.75 [cd]	12.26 [cd]	11
8.35 [cd]	60 [dj]	68.27 [bf]	47.05 [dg]	11.64 [def]	12
7.82 [cd]	60 [dj]	70.05 [bc]	31.5 [klm]	11.31 [dg]	13
8.20 [eh]	58 [Ijk]	67.27 [bf]	22.75 [de]	11.31[dg]	14
7/97 [mn]	63.50 [ae]	75.97 [a]	38 [hk]	10.04 [hk]	15
8.25 [def]	65.75 [a]	68.75 [be]	49.25 [def]	11.53 [def]	16
7.97 [klm]	63.75 [ad]	67.67 [bf]	51.25 [def]	11.63 [def]	17
7.97 [klm]	65.25 [ab]	69.35 [bcd]	42.75 [fi]	10.70 [fi]	18
8.07 [hl]	65.25 [ab]	68.67 [be]	50.75 [def]	11.32 [dg]	19
8.15 [ei]	59.25 [fk]	68.67 [be]	43.75 [fi]	11.15 [efg]	20
7.97 [klm]	75.53 [a]	70.30 [bc]	23.75 [mn]	8.68[lm]	21
8.07 [hl]	60.25 [dk]	67.80 [bf]	52.50 [de]	11.57 [def]	22
8 [jm]	68.75 [hk]	67.82 [bf]	45.75 [fh]	11.02 [fgh]	23
8.05 [il]	62.75 [af]	69.22 [bcd]	40.25 [gj]	10.38 [gj]	24
8.72 [ab]	62.80 [af]	65.85 [cg]	65.25 [b]	12.82 [bc]	Sabalan
8.82 [a]	58.95 [gk]	64.04 [efg]	66.75 [b]	12.67 [bc]	Homa
8.45 [c]	57.05 [Jk]	83.85 [a]	53.50 [de]	13.36 [b]	Rijaw
8.02 [il]	57.17 [Jkl]	62.42 [g]	79 [a]	14.71 [a]	Karim
8.05 [il]	57.70 [kl]	64.40 [dg]	32.25 [jm]	9.14 [klm]	Rasad

میانگین‌های دارای حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار درسطح ۵٪ آزمون دانکن هستند

The mean of like letters is not significantly different at the 5% Duncan test

گلوتنین (HMW-GS) سه زیرواحد در جایگاه ژنی GLU- A1، چهار زیر واحد در جایگاه GLU- B1 و دو زیرواحد در جایگاه GLU- D1 شناسایی شدند. درمکان ژنیGlu-A1 آلل های نول، *۲ و ۱ به ترتیب دارای فراوانی های ۱۰/۳، ۲۷/۶ و ۶۲/۱ درصد بودند. برتری آلل های ۱ و*۲ نسبت به آلل نول در بسیاری از مطالعات و تحقیقات گزارش شده است (Shewry *et al.*, 1992; Nikooseresht *et al.*, 2009; Najafiyan and Baghaie, 2011). پایین بودن فراوانی آلل نول که از ارزش کیفی کمتری برخوردار است در بین ارقام و لاین های امید بخش قابل انتظار می باشد. درمطالعه ۴۰۰ گندم نان از کشورهای کانادا، آمریکا و پاکستان زیرواحد نول حضور نداشته و در کشورهای استرالیا، اوکراین، روسیه و قزاقزستان فراوانی ۹ درصد یا کمتر را نشان داده است. در مکان ژنی GLU- B1 زیرواحدهای ۸+۷ دارای بیشترین فراوانی (۳۴/۵ درصد) بود، زیرواحد۹ مشاهده شده که در جایگاه ژنی GLU- D1 زیرواحد ۱۰+۵ داری ارزش ۴ و زیر واحد ۱۲+۲ داری ارزش دو است (MirAli *et al.*, 1999). با توجه به دو برابر بودن ارزش نانوایی زیر واحد ۱۰+۵ در مقایسه با زیرواحد ۱۲+۲ و کمتر بودن فروانی زیر واحد ۱۰+۵ وارد کردن این زیرواحد در ژنوتیپ‌ها و ارقام دیم ایرانی ضروری به‌نظر می‌رسد.

رتبه‌بندی کیفی ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ آمده است. ژنوتیپ های شماره ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲،۱۷، ۱۹، ۲۰، ۲۴، Sabalan و Rasad با امتیاز نانوایی ۱۰ به عنوان بهترین ژنوتیپ ها از لحاظ کیفیت نانوایی شناسایی شدند. ژنوتیپ‌های ۳، ۴، ۹، ۱۱، ۱۴، ۱۶، ۱۸،۲۱، ۲۲، ۲۳، Homa، Karim و Ohadi با رتبه کیفی ۹-۸ کیفیت بالائی داشتند، ژنوتیپ های شماره ۵، ۱۳، ۱۵، ۲۷ و آذر۲ با رتبه ۷-۵ کیفی کیفیت متوسط داشتند. در بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی قرار گرفته رقم آذر۲ بیشترین سطح زیر کشت را به خود اختصاص داده است که دارای کیفیت متوسط به لحاظ نانوایی می‌باشد این موضوع به علت داشتن آلل نول در مکان ژنی GLU- A1 است به طوری که اگر در این جایگاه به جایی آلل نول، آلل ۱ یا *۲ را داشته باشد کیفیت آذر۲ کیفیت بهتری به لحاظ نانوائی پیدا خواهند کرد.

مقادیر صفات کیفی اندازه گیری شده برای هر نمونه درجدول ۳ ارائه شده است. ژنوتیپهای شماره ۴ و Karim بالاترین درصد پروتئین (به ترتیب با ۱۵/۱۹ و ۱۴/۷۱ درصد)، بالاترین میزان عدد زلنی (به ترتیب ۸۰/۵ و ۷۹ درصد) و پایین‌ترین میزان نشاسته (۶۳/۶ و ۶۲/۴۲ درصد) را داشتند. ژنوتیپ‌های ۵ و ۲۱ کمترین درصد پروتئین (به ترتیب با ۸/۲ و ۸/۶۸ درصد)، ژنوتیپ‌های ۵، ۱۴

جدول۴- ضرایب همبستگی بین صفات کیفی مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌ها و ارقام گندم

Table4-correlation coefficient among quality traits in studied of cultivars and genotypes

	رطوبت دانه Seed Moisture	عدد زلنی Zelny number	نشاسته Starch	سختی دانه Seed Hardness	درصد پروتئین Protein percentage
رطوبت دانه	1				
عدد زلنی	0.51^{**}	1			
نشاسته	-0.30^{**}	-0.51^{**}	1		
سختی دانه	-0.02^{ns}	0.13^{ns}	-0.07^{ns}	1	
درصد پروتئین	0.47^{**}	0.95^{**}	-0.53^{**}	0.08^{ns}	1

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد آمار

ns، * و ** indicating non-significant, significant at 1 and 5% respectivly

جدول ۵- مقادیر ویژه، واریانس و درصد تجمعی مقادیر ویژه

Table 5- Specific values, variance and cumulative percentages of special values

عامل‌ها Factors	درصدواریانس Percentage of variance	ریشه راکد Stagnant root	درصد واریانس تجمعی Cumulative variance percentage
PC1	51.86	2.84	56.81
PC2	20.73	1.03	72.8

و ۲۱ کمترین میزان عدد زلنی (به ترتیب با ۲۲، ۲۲/۷۵ و ۲۳/۷۵ درصد)، ژنوتیپ‌های ۵، ۱۵ و ۲۷ بیشترین درصد نشاسته (به ترتیب با ۷۱/۱۷، ۷۵/۹۷ و۸۳/۸۵ درصد) را داشتند.

همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عدد زلنی با صفت رطوبت دانه مشاهده شد (r = ۰/۵۱**). میزان نشاسته همبستگی منفی و معنی‌داری با صفات رطوبت دانه (r = -۰/۳۰**) و عدد زلنی (r = -۰/۵۱**) نشان داد. درصد پروتئین همبستگی مثبت و معنی دار با صفات میزان رطوبت دانه (r = ۰/۴۷**) و عدد زلنی (r = ۰/۹۵**) و همبستگی منفی و معنی داری با صفت میزان نشاسته (r = -۰/۵۳**) نشان داد. بین صفت سختی دانه و سایر صفات هیچ همبستگی مشاهده نشد (جدول ۴). همبستگی مثبت و معنی داری بین درصد پروتئین با عدد زلنی، سختی دانه، گلوتن مرطوب و خشک گزارش شده است (Rajabi hashtjin *et al.*, 2013). همچنین همبستگی مثبت و معنی داری بین درصد پروتئین با صفات سختی دانه، درصد رطوبت دانه، جذب آب، حجم نان،حجم رسوب زلنی و حجم رسوب گزارش شده است (Shahinnia *et al.*, 2002). نتایج به دست آمده با سایر گزارشات قبلی مبنی بر همبستگی مثبت و معنی دار بین درصد پروتئین دانه با عدد زلنی مطابقت دارد (Singh *et al.*, 1991; Payne *et al.*, 1984; Khazaei *et al.*, 2012). هر چند همبستگی فنوتیپی معیار قابل اعتمادی جهت ارتباط بین صفات نیست اما احتمالاً انتخاب ژنوتیپ هایی که از عدد زلنی بالا و میزان نشاسته کمتری برخوردار هستند می تواند ما را در دست یابی به ژنوتیپ هایی با پروتئین های بالا یاری نمایند. بنابراین کسب این نتیجه حاکی از مناسب بودن صفت عدد زلنی و نشاسته برای سنجش میزان پروتئین است.

تجزیه به عامل‌ها

نتایج تجزیه به عامل‌ها در جدول ۵ و ۶ آمده است. با درنظر گرفتن ریشه های بزرگتر از یک، دو مولفه ۷۲/۸ درصد از کل واریانس را دربین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی برای ۵ صفت کیفی تبیین کردند. مولفه اول و دوم به‌ترتیب ۵۱/۸ و ۲۰/۷۳ درصد تغییرات داده‌ها را توجیه کردند (جدول ۵). از اهداف این تجزیه خلاصه کردن صفت کیفی در

جدول ۶- تجزیه به مولفه‌های اصلی

Table 6- Principle of component analysis

متغیر یا صفت	PC1	PC2	واریانس اختصاصی هر متغیر	میزان اشتراک هر متغیر
Seed moisture درصد رطوبت	0.66	0.02	0	1
Protein% درصد پروتئین	0.93	0.20	0.8	0.92
Zelny number عدد زلنی	0.82	0.22	0.2	0.98
Seed hardness سختی دانه	-0.23	0.95	1	0.99
Starch نشاسته	-0.90	0.01	1	0.96

قالب چند مولفه اصلی و مشخص کردن نقش این صفات در تنوع کل است. در مولفه اول که بیشترین میزان تغییرات را توجیه کرد صفات درصد پروتئین، عدد زلنی و درصد رطوبت در جهت مثبت و صفات درصد نشاسته و سختی دانه در جهت منفی بیشترین تاثیر را در توجیه تنوع داشتند. در مولفه دوم سختی دانه، عدد زلنی و درصد پروتئین به ترتیب با ۰/۹۵، ۰/۲۲ و ۰/۲ درصد بیشترین تغییرات را به خود اختصاص دادند، درصد رطوبت و نشاسته سهم کمی (به ترتیب با دو و یک درصد) در توجیه تغییرات کل داشتند (جدول ۶). لازم به ذکر است در مولفه دوم تمامی صفات در جهت مثبت بر روی تنوع کل تاثیر داشتند. صفت درصد پروتئین و عدد زلنی در دو مولفه هم نشان بود و درصد بالائی از تغییرات را به خود اختصاص می‌داد که نشان می‌دهد این دو صفت برای توجیه کیفیت ارقام گندم صفت مهمی به حساب می‌آید.

برای شناسایی ارتباط بین آلل‌های جایگاه ژنی Glu-A1، Glu-B1 و Glu-D1 و صفات کیفی مورد مطالعه از رگرسیون گام به گام استفاده شد (جدول ۷). در این روش در هر مرحله آلل‌ها به صورت داده صفر و یک (یک برای وجود باند، صفر برای عدم وجود باند) به عنوان متغییر مستقل (X) و صفات کیفی (Y) به عنوان متغییر وابسته در تجزیه وارد شدند. در استفاده از رگرسیون گام به گام دو صفت سختی دانه و عدد زلنی وارد مدل شدند و صفات

جدول ۷- تجزیه رگرسیون گام به گام بر روی صفات سختی دانه و عدد زلنی

Table 7- stepwise regression analysis on seed hardness and zeleny number

نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام بر روی صفت سختی دانه						
مکان ژنی	آلل	B	T	R2 جزئی	R2 مدل	Sig
Glu-A1	1	0.107	0.557	0.109	0.811	0.582
Glu-A1	2*	-0.099	0.557	-0.109	0.956	0.582
Glu-A1	Null	0.46	2.69	0.46	0.92	0.012
Glu-B1	7+8	-0.242	1.443	0.272	1	0.161
Glu-B1	7+9	0.301	1.789	0.331	0.956	0.085
Glu-B1	17+18	-0.168	0.98	0.189	0.995	0.336
Glu-B1	13+16	0.175	1.003	0.193	0.963	0.325
Glu-D1	5+10	-0.006	0.036	-0.007	0.970	0.971
Glu-D1	2+12	0.006	0.036	0.007	0.970	0.971
نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام بر روی صفت عدد زلنی						
مکان ژنی	آلل	B	T	R2 جزئی	R2 مدل	Sig
Glu-A1	1	-0.019	0.107	-0.021	1	0.915
Glu-A1	2*	0.238	1.363	0.258	0.981	0.184
Glu-A1	N	-0.326	1.904	-0.350	0.956	0.068
Glu-B1	7+8	0.025	0.124	-0.024	0.799	0.902
Glu-B1	7+9	-0.49	2.32	-0.409	-0.818	0.027
Glu-B1	17+18	0.131	0.694	0.135	0.879	0.494
Glu-B1	13+16	-0.123	0.673	-0.131	0.939	0.507
Glu-D1	5+10	-0.205	1.134	-0.217	0.930	0.267
Glu-D1	2+12	0.205	1.134	0.217	0.930	0.267

رطوبت دانه، پروتئین و نشاسته وارد مدل نشدند که ممکن است به علت فاصله زیاد این مکان‌های ژنی با صفات مذکور، تاثیر مکان‌های ژنی بزرگ اثر دیگر یا احتمالاً اثرات زیاد محیط باشد.

رابطه آلل نول در جایگاه ژنی Glu-A1 با سختی دانه معنی‌دار بود (جدول ۴). اثر زیادی برای لوکوس Glu-A1 در مقدار رسوب، مقاومت خمیر و حجم نان گزارش شده است (Rezai, 1996). آلل ۹+۷ در مکان ژنی Glu-B1 اثر معنی‌داری بر روی عدد زلنی داشت. اثر مکان های ژنی سه گانه Glu-A1، Glu-B1 و Glu-D1 در تغییر حجم رسوب زلنی و حجم رسوب SDS از نظر آماری معنی‌دار گزارش شده است (Najafian and Abd-mishani, 1994).

نتایج این تحقیق نشان داد که SDS-PAGE روش مناسبی برای تعیین کیفیت آرد گندم می‌باشد. تنوع بالایی بر اساس روش SDS-PAGE و صفات کیفی برای ارقام گندم مشاهده شد. همچنین صفات کیفی به‌ویژه درصد پروتئین، عدد زلنی، سختی دانه و نشاسته همراه روش SDS-PAGE برای ارزیابی کیفی ارقام می‌تواند مفید باشد. در تجزیه به مولفه‌های اصلی دو مولفه اول و دوم به‌ترتیب ۵۱/۸ و ۲۰/۷۳ درصد تغییرات داده‌ها را توجیه کردند. در مولفه اول درصد پروتئین با ۰/۹۳ و در مولفه دوم سختی دانه با ۰/۹۵ بیشترین تغییرات صفت کیفی را توجیه کردند که نشان می‌دهد این دو صفت نقش مهمی در کیفیت آرد نان دارند. در تجزیه رگرسیون گام به گام رابطه آلل نول با سختی دانه و آلل ۹+۷ با عدد زلنی معنی‌دار بود. اطلاعات حاصل از این تحقیق می تواند در انجام تلاقی با هدف افزایش کیفیت گندم مورد استفاده قرار گیرد.

REFERENCES

Afshan, S. and Naqvi, F.N. 2011. Allelic variation in high molecular weight glutenin subunits in Pakistani bread wheat genotypes. *Cereal Research Communication*, 39: 109-119.

Akbari Rad, M., Najafian, G., Esmailzadeh Moghadam, M. and Khodarahmi, M. 2010. Study of genetic variation in baking quality related characteristics in bread wheat advanced lines and commercial cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 12: 213-226.(In persion)

Bonafede, M.D., Tranquilli, G., Pflüger, L.A., Pena, R.J. and Dubcovsky, J. 2015. Effect of allelic variation at the Glu-3/Gli-1 loci on breadmaking quality parameters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science*, 62: 143-150.

Bucsella, B., Takács, Á., Vizer, V., Schwendener, U. and Tömösközi, S. 2016. Comparison of the effects of different heat treatment processes on rheological properties of cake and bread wheat flours. *Food Chemistry*, 190: 990-996.

Carson, G.R. and Edwards, N.M. 2009. Criteria of wheat and flour quality. *Wheat: Chemistry and Technology*, (Ed. 4), 97-118.

Delcour, J.A., Joye, I.J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K. and Lagrain, B. 2012. Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science and Technology,* 3: 469-492.

D'Ovidio, R. and Masci, S. 2004. The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. *Journal of Cereal Science,* 39: 321-339.

D`ovidio, R., Simeone, M., Masci, S. and Porceddu, E. 1997. Molecular characterization of a LMW-GS gene located on chromosome 1B an the development of primers specific for the Glu-B3 complex locus in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 1119-1126.

Duveiller, E., Singh, R.P. and Nicol, J.M. 2007. The challenges of maintaining wheat productivity: pests, diseases and potential epidemics. *Euphytica*, 157: 417–430.

Fatehi, F., Maleki, M., Salavati, A., Bihamta, M.R, Zali A.A and Hoseinzadeh, A.A. 2008.

Relation between high molecular weight glutenin subunit and quality of bread making wheat cultivar. *Iranian Journal of Crop Sciences,* 39: 43-52.(In Persion)

Fowler, D. B., Brydon, J., and Delaroche, I. A., 1990, Environmental and genotype influence on grain protein concentration of wheat and rye. *Agronomy Journal*, 82:655-664.

Gupta, R. B., Khan, K. and Macritchie, F. 1993. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in the quantity and size distribution of polymeric protein. *Journal of Cereal Science,* 18:23-41.

Haghparast, R., Rajabi, R., Najafian, G., Rashmekarim, K., and M. Aghaee- Sarbarzeh. 2009. Evaluation of indices related to grain quality in advanced bread wheat genotypes under rainfed conditions. *Seed and Plant Improvement Journal*, 25-1: 315-328. (In Persion)

Izadi Darbandi, A., Yazdi Samadi, B., Shanejat Boushehri, A. A. and Mohammadi, M. 2010. Allelic variations in Glu-1 and Glu-3 loci of historical and modern Iranian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Journal of Genetics*, 89: 193-199. (In Persion)

Izanloo, A. and Norouzdokht-Nokhandan, S. 2016. Allelic Distribution of Puroindoline Genes Affecting the Grain Hardness in Some Iranian Bread Wheat Cultivars. *Molecular Plant Breeding*, *7*:3-10.

Johal, J., Gianibelli, M.C., Rahman, S., Morell, M.K. and Gale, K.R. 2004. Characterization of low-molecular-weight glutenin genes in Aegilops tauschii. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 1028-1040.

Khazaei, M., A. Tadayon and Houshmand. A. 2012. Heritability and the relationship between durum wheat grain quality traits using recombinant inbred populations final layer. *Production and Processing of Agricultural and Horticultural Crops,* 3: 139-123. (In Persion)

Liu, L., Ikeda, T.M., Branlard, G., Pena, R.J., Rogers, W.J., Lerner, S.E. and Kolman, M.A. 2010. Comparison of low molecular weight glutenin subunits identified by SDS-PAGE, 2-DE, MALDI-TOF-MS and PCR in common wheat. *BMC Plant Biology*, 10: 124.

Macritchie, F.1987. Evaluation of contributions from wheat protein fractions to dough mixing and breadmaking. *Journal of Cereal Science*, 6:259-268.

Masci, S., D'Ovidio, R., Lafiandra, D. and Kasarda, D.D. 1998. Characterization of a low-molecular-weight glutenin subunit gene from bread wheat and the corresponding protein that represents a major subunit of the glutenin polymer. *Plant Physiology*, 118: 1147-1158.

Meng, X.G. and Cai. S.X. 2008. Association between glutenin alleles and Lanzhou alkaline stretched noodle quality of northwest China spring wheats. Relationship with the variations at the Glu-1 loci. *Cereal Research Communication*, 36: 107–115.

Mehrazar, E., Mohammadi, M., Najafian, G. and Izadi-Darbandi, A. 2013. Relationship Between High Molecular Weight Glutenin Subunits and Grain Quality Traits in Bread Wheat Cultivars. *Seed and Plant Improvement Journal,* 29-*1: 823-838.* (In Persion)

MirAli, N., Arabi, M. I. and Al-Safadi. B. 1999. The high molecular weight glutenin subunit composition of Syrian grown bread wheat and its relationships with gluten strength. *Journal of Genetics and Breeding,* 53: 237-245.

Mottaghi, M., Najafian, G. and Bihamta, M. R. 2009. Effect of terminal drought stress on grain yield and baking quality of hexaploid wheat genotypes. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 11: 290-306. (In Persion)

Nabovvati, S., Aghaee Sarbarzeh, M., Choukan, R., Ghanavati, F., and Najafian, G. 2010. Genetic variation in agronomic characteristics and grain quality traits of durum wheat genotypes. *Seed and Plant Improvement Journal,* 26-1: 331-350. (In Persion)

Najafian G, Abd-mishani. C. and Yazdi Samadi B. 1997**.** Effect of allelic variation for high molecular weight glutenin subunits on Bread-Making quality of breading lines of wheat. *Iranian Journal of Agriculture Science,* 28: 1-14. (In Persion)

Najafian, G. and Abd-mishani. C. 1994. Relation between high molecular weight glutenin subunit and bread making quality of Iranian grown wheat cultivar. *Iranian Journal of Agricultural Science,* 26: 31-40. (In Persion)

Najafiyan, G., and Bagaei. N. 2011. Genetic diversity of high molecular weight glutenin subunits in wheat cultivars and final Lai minority

parents are able to use in cold and temperate breeding programs in Iran. *Seed and Plant Journal*, 1: 321-305. (In Persian)

Nikooseresht, R., Najafian, R.G., Mirfakhrai G.H. and Dehghani. H. 2009. Evaluation of bread making quality of wheat using SDS sedimentation volume and high molecular weight glutenin subunits. *Seed and Plant Improvement Journal*, 25-1: 373-383. (In Persian)

Payne, P.I, Holt L.M. and Lawrence, G.J. 1983. Detection of a novel high molecular weight subunit of glutenin in some Japanese hexaploid wheats. *Journal of Cereal Science,* 1: 3-8.

Payne, P.I., Corfield, K.G., Holt, L.M. and Blackman. J.A. 1981. Correlation between the inheritance of certain high molecular weight subunit of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *Journal of Science Food and Agriculture*, 32: 51-60.

Payne, **P.I., L.M. Holt, E.A. Jackson and Law. C.N.** 1984.Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 304: 359-371.

Payne, P. I and Lawrence, G,J. 1983. Catalogue of alleles for the complex loci, GluA1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for HMW subunits of glutenin hexaploid wheat. *Cereal Research Communications,* 11: 29-35.

Perron, C.E., Lukow, O.M. and Townley-Smith, F. 1998. The use of doubled haploids to investigate the effect of endosperm proteins on dough mixing and baking properties. In Proceedings of 9th International Wheat Genetics Symposium" University Extension Press, Univ. of Saskatchewan, Saskatoon: 248-250.

Rajabi hashtjin, M., Agaei sarbze, M., Fotokiyan, M. and Mohammadi. M. 2013. Evaluation of quality traits in durum wheat and bread baking. *Journal of Biotechnology Crops*, 4: 33-34.

Ram, S. 2003. High Molecular Weight Glutenin Subunit Composition of Indian Wheats and Their Relationships with Dough Strength. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 12: 151-155.

Rezai A, 1996. Association Between High Molecular wheat glutenin subunits and quality in common wheat (*Triticum aestivum* L.). 27: 11-21.

Ribeiro, M., Carvalho, C., Carnide, V., Guedes-Pinto ,H. and Igrejas, G. 2011. Towards allelic diversity in the storage proteins of old and currently growing tetraploid and hexaploidwheats in Portugal, *Genetics Resource Crop Evolution*, 58:1051-1073.

Rozbicki, J., Ceglińska, A., Gozdowski, D., Jakubczak, M., Cacak-Pietrzak, G., Mądry, W., Golba, J., Piechociński, M., Sobczyński, G., Studnicki, M. and Drzazga, T. 2015. Influence of the cultivar, environment and management on the grain yield and bread-making quality in winter wheat. *Journal of Cereal Science*, 61:126-132.

Shahinnia, F., Rezaie, A. and Saedi A. 2002. Variation and path coefficient analysis of bread making quality traits in breeding lines, cultivars and landrace varieties of wheat. *Journal of Science and Technology*. 6: 89-113.

Shewry, P.R., Halford N. G. and Tatham A.S. 1992. High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 15: 105-120.

Singh, A.M., Deveshwar, J.J., Ahlawat, A.K. and Singh. B.B. 2007. Identification of novel variants of High Molecular Weight Glutenin Subunits in Indian bread wheat landraces. *Cereal Research Communication,* 35: 99-108.

Singh, N. K., Shepherd K.W. and Cornish. G.B. 1991. A simplified SDS—PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science*, 14: 203-208.

Van den Broeck, H.C., America, A.H., Smulders, M.J., Bosch, D., Hamer, R.J., Gilissen, L.J. and Van der Meer, I.M. 2009. A modified extraction protocol enables detection and quantification of celiac disease-related gluten proteins from wheat. *Journal of Chromatography B*, 877: 975-982.

Yang, F.P., Wang, L.H., Wang, J.W., He, X.Y., Zhang, X.K., Shang, X.W., Yang, W.X., Xia, X.C. and He, Z.H. 2010. Characterisation of high-and low-molecular-weight glutenin subunit genes in Chinese winter wheat cultivars and advanced lines using allele-specific markers and SDS-PAGE. *Crop and Pasture Science,* 61:84-91.

Yong, Z., Zhonghu, H., Ye, G., Aimin, Z. and Ginkel, M. 2004. Effect of environment and genotype on bread-making quality of spring-sown spring wheat cultivars in China. *Euphytica*, 139:75-83.

Evaulation of the allelic diversity of high-molecular-weight glutenin subunits by SDS-PAGE in cultivar and dryland promising wheat genotypes

Fereshteh Derakhshan[1], Saber Golkari[2]*, Behzad Sadeghzadeh[2]

1- Maragheh Branch of Islamic Azad University, Maragheh, Iran
2- Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Maragheh, Iran

*Corresponding Author Email: *s.golkari@areeo.ir*

Receive: June 3, 2017; Revise: July 23, 2017; Accept: September 17, 2017

ABSTRACT

In order to evaluate the allelic diversity of Glutenin Subunits in estimating the quality of bread wheat, 29 promising dryland wheat genotypes were studied by SDS-PAGE. It was found that for Glu-A1 locus, 1 allele was observed for Karim, Rasad, Sabalan, Ohadi, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 14, 17, 19, 21, 22, 23 and 24 genotypes, for 6, 7, 12, 13, 16, 20, Homa and Rijaw genotypes, allele 2* and for 16, 18 and Azar2 genotypes, null allele was observed. In GLU-B1 locus, 7+9 allele was seen for Ohadi, Rijaw, 5, 9, 13, 16 and 21 genotypes, 7+8 allele was observed for Azar2, Homa, Karim, Rasad, 7, 8, 10,12, 19, 20, 21 genotypes, 17+18 allele was seen for Sabalan, 3, 4, 6, 11, 18, and 24 genotypes, and 13+16 allele was observed for 14, 15, 17 and 23 genotypes. In GLU-D1 locus, 5+10 allele was observed for Ohadi, Rijaw, Karim, 5, 9, 11, 13, 14, 15, 22 and 23 genotypes, 2+12 allele was observed for Azar2, Sabalan, Rasad, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21 and 24 genotypes. Significant Positive correlation was found between grains protein with zeleny number and significant negative correlation was observed between protein and starch percentage. Based on principal component analysis, two factors were identified that can explain 72/8 percent of diversity. Based on stepwise regression analysis, significant correlations were also found between null allel and hardness, and between 7+9 allel and zeleny.

Keywords: *Glutenin; HMW-GS; SDS-PAGE; Wheat flour quality*

How to cite this article
Derakhshan F, Golkari S, Sadeghzadeh B. Allelic Diversity Evaluation of High-Molecular-Weight Glutenin Subunits by SDS-PAGE in Cultivar and Dryland Promising Wheat Genotypes. J Crop Sci Res Arid Reg, 2017; 1(2): 221-232.
DOI: 10.22034/csrar.01.02.08

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the CSRAR Journal.
The content of this article is distributed under CSRAR open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0) License. For more information, please visit http://cropscience.uoz.ac.ir/?lang=en.