

ارزش آزمون رسوب در برآورد کیفیت نانوائی گندم و توجیه تغییرات آن از راه تجزیه زیرواحدهای گلوتنین با روش RP-HPLC

رضا امیری و عبدالمجید رضایی^۱

چکیده

به منظور بررسی ارتباط میان مقدار رسوب با کیفیت SDS و کیفیت نانوائی گندم، زیرواحدهای گلوتنین ژنوتیپ‌های مختلف (ارقام ایرانی و خارجی) به وسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی زیاد و فاز معکوس تجزیه گردیدند. ارتفاع رسوب هر ژنوتیپ به عنوان معیار غیرمستقیم ارزیابی ارزش نانوائی در نظر گرفته شد.

ضرایب هم‌بستگی بیانگر ارتباط بیشتر نقاط فراز گلوتنین با وزن مولکولی کم و مقدار رسوب بودند. تجزیه مؤلفه‌های اصلی وجود ارتباط میان برخی از زیرواحدها و مقدار رسوب را تأیید نمود. با استفاده از رگرسیون مرحله‌ای، دو زیرواحد با وزن مولکولی کم و چهار زیرواحد با وزن مولکولی زیاد انتخاب گردید، که به ترتیب ۷۰/۲ و ۱۸/۷ درصد از تغییرات مقدار رسوب را توجیه نمودند. براساس نتایج رگرسیون مرحله‌ای، تابع تشخیصی تعیین شد که کارایی زیادی را در جداسازی درست ژنوتیپ‌های کاملاً متفاوت (ارقام بومی و زراعی ایرانی) داشت، و نشان داد که ارتباط به دست آمده میان زیرواحدهای گلوتنین و مقدار رسوب به گونه چشم‌گیری ژنتیکی بوده و آثار زیرواحدهای با وزن مولکولی کم و زیاد بر مقدار رسوب افزایشی است. بنابراین، به نظر می‌رسد که می‌توان از این روش، و بر پایه اجزای بیشتری از زیرواحدهای پروتئین (نه تنها زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد)، کیفیت نان را در بسیاری از زمینه‌های ژنتیکی برآورد نمود.

واژه‌های کلیدی: تابع تشخیص، رگرسیون مرحله‌ای، مؤلفه‌های اصلی

مقدمه

باین و همکاران (۲۴) پروتئین‌های دانه ۸۴ واریته گندم را به روش الکتروفورز با ژل پلی آکرلامید، در حضور سدیم دودسیل سولفات^۲ جداسازی نمودند، و نشان دادند که ۴۴-۶۰ درصد از تغییرات کیفیت نانوائی می‌تواند به وسیله گوناگونی در زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد (HMWG^۳) توجیه شود. در این پژوهش با تصحیح اثر جا به جایی

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

2. Sodium dodecyle sulfate

3. High molecular weight glutenin subunits

خمیر با امتیاز زیرواحدها عموماً کوچک‌تر از روش‌های کروماتوگرافی و ایمونولوژیک بود.

پژوهش‌های زیادی، از جمله بررسی‌های پاین و همکاران (۲۳) بر این فرضیه تأکید دارند که کیفیت پخت نان بیشتر به وسیله شمار کمی از پروتئین‌های مهم (زیرواحدهای گلوئین با وزن مولکولی زیاد) کنترل می‌شود. با این حال، نتایج پیرمارد و همکاران (۲۱) نشان داد که این فرضیه وابسته به زمینه ژنتیکی گندم‌های آزمایش شده است.

در برخی از زمینه‌های ژنتیکی (مانند جوامع II و IV مورد بررسی این پژوهشگران)، بودن یا نبودن پروتئین‌های ویژه، آشکارا کیفیت آرد را نشان داد. در دیگر زمینه‌های ژنتیکی، کیفیت آرد به آثار چندین جزء پروتئین بستگی داشت. بنابراین، ارزش برآورد در بسیاری از زمینه‌های ژنتیکی، بستگی به شمار اجزای پروتئینی مورد استفاده دارد.

با توجه به این مقدمه، هدف از این پژوهش تجزیه کل گلوئین برخی از ارقام گندم به وسیله روش RP-HPLC تعیین همبستگی نتایج به دست آمده با مقدار رسوب با SSD، تلاش در توجیه ژنتیکی تفاوت‌ها، و ارائه یک مدل برای برآورد کیفیت بر پایه ارتفاع رسوب بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد و روش‌های به کار رفته مشتمل بر مواد گیاهی، وسایل و مواد شیمیایی، شرایط تجزیه و دستگاه HPLC به تفصیل در مقاله دیگری (۲) ارائه شده است، و در این جا به طور مختصر به آنها اشاره خواهد شد. مواد مورد بررسی شامل ۱۲ لاین اصلاحی از بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، ۱۰ رقم خارجی، ۵ رقم ایرانی، و ۱۰ رقم بومی از استان‌های یزد و چهارمحال و بختیاری بود که در سال قبل از آزمایش در شرایط یکسان تکثیر گردیدند. اسامی ارقام در جداول ۱ و ۶ آورده شده است.

برای استخراج گلوئین‌ها از دو حلال A، یعنی پروپانول^۵

کروموزومی (IBL/IRS) سهم توجیه شده کیفیت به ۶۷-۵۵ درصد افزایش یافت. مک ریچی و همکاران (۱۸) نشان دادند که امتیاز مکان Glu-۱ سهم مهمی (۵۰-۷۰ درصد) از تغییرات در کیفیت نانوائی گندم‌های بسیاری از کشورها را توجیه می‌کند. با وجود این، کیفیت نان تنها با زیرواحدهای گلوئین با وزن مولکولی زیاد تعیین نمی‌شود.

گری باخ و همکاران (۹) دریافتند که لاین‌های با ترکیبات نامطلوب زیرواحدهای گلوئین با وزن مولکولی زیاد، معمولاً از نظر کیفیت ضعیف هستند، ولی وجود ترکیبات مطلوب این زیرواحدها نیز کیفیت قابل قبولی را تضمین نمی‌نماید. خان و همکاران (۱۵) نتایج مشابهی را در نمونه‌های گندم‌های آمریکای شمالی به دست آوردند. مطالعه گوپتا و همکاران (۱۰) روی ۵۳ ژنوتیپ از سرتاسر جهان، شایستگی زیرواحدهای گلوئین با وزن مولکولی زیاد را در برآورد کیفیت نان تأیید نمود، اما ۴۸ رقم استرالیایی در این بررسی نتایج معکوسی به دست دادند. در این ارقام امتیاز مکان Glu-۱ فقط در حدود ۱۹ درصد از تغییرات بیشترین مقاومت خمیر را توجیه نمود. افزون بر این، باور عمومی مبنی بر برتری زیرواحدهای ۱۰+۵ نسبت به ۱۲+۲، در گندم‌های استرالیایی مورد بررسی دیده نشد.

آندروز و همکاران (۴) همبستگی‌های میان اتصال آنتی بادی، مقدار و ترکیب زیرواحدهای گلوئین با وزن مولکولی زیاد و کم و ویژگی‌های خمیر همچون حجم نان، امتیاز نان، جذب آب و زمان تکامل خمیر در فارینوگراف^۱، بیشترین مقاومت در اکستنسوگراف^۲ و توانایی بسط خمیر را با استفاده از داده‌های به دست آمده از RP-HPLC^۳ و ارزیابی ایمونولوژیک^۴ بررسی نمودند. امتیاز زیرواحدهای گلوئین با وزن مولکولی زیاد تنها با بیشترین مقاومت خمیر همبستگی ثابت داشت، ولی این همبستگی با ویژگی‌های دیگر خمیر و نان دیده نشد. با وجود این، همبستگی میان بیشترین مقاومت

- | | | |
|----------------|--------------------------|---|
| 1. Farinograph | 2. Extensograph | 3. Reverse phase high performance liquid chromatography |
| 4. Immunologic | 5. 50% (V/V) propan-1-ol | |

گردیدند. بیشتر نمونه‌ها دوبار تجزیه شدند، و در طول دوره آزمایش، چند بار ستون با متانل ویژه HPLC (۶۷، ۵۰ یا ۱۰۰ درصد متانل) شست شو گردید. کلیه کروماتوگرام‌ها از خط پایه ذخیره شده کم شدند.

ارتفاع رسوب با SDS به روش آکسفورد و همکاران (۵) برای سه نمونه آرد از هر ژنوتیپ تعیین شد، و از میانگین آن در محاسبات استفاده گردید. بدین منظور، ابتدا پنج میلی لیتر اسید لاکتیک ۸۵ درصد در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر، و نیز ۱۰ گرم SDS در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. سپس دو محلول به ترتیب به نسبت ۱ به ۴۸ مخلوط شدند، و ۱۲ میلی لیتر آن همراه با یک گرم آرد مورد استفاده قرار گرفت. ارتفاع رسوب پس از ۱۰ دقیقه در لوله‌های استاندارد (۱۴×۱۵۰) تعیین شد. تجزیه‌های آماری شامل محاسبه ضرایب هم‌بستگی پیرسون، رگرسیون مرحله‌ای، تجزیه مؤلفه‌های اصلی و تجزیه تابع تشخیص (۱۴) بود، که همگی با استفاده از نرم‌افزار آماری اس.ا.اس (۲۵) انجام شد.

نتایج و بحث

زیرواحدهای گلو تنین

جدول ۱ کلیه زیرواحدهای (نقاط فراز) موجود در ۲۱ ژنوتیپ گندم نان مورد بررسی را نشان می‌دهد. برای سهولت بحث، نقاط فراز با زمان ماندگاری ۹/۲۵ تا ۱۵/۹۱ دقیقه، به ترتیب افزایش آب‌گیری، زیرواحدهای ۱ تا ۲۴ نام‌گذاری شدند.

شکل‌های ۱ و ۲ کروماتوگرام‌های گلو تنین را به ترتیب در لاین‌های اصلاحی ۳ و ۵، و ارقام مارکوییس^{۱۱} و یکورا رائو^{۱۲} نشان می‌دهد. بورنوف و بیتز (۷) نقاط فراز زود شست‌شو شونده (زمان ماندگاری ۷ تا ۱۲/۵ دقیقه) و دیر شست‌شو شونده (زمان ماندگاری بیش از ۱۲/۵ دقیقه) را به ترتیب به زیرواحدهای گلو تنین با وزن مولکولی زیاد و کم اختصاص

۵۰ درصد (V/V) و B، یا پروپانول ۵۰ درصد (V/V)، تریس اسید کلریدریک^۱ ۰/۸ M با pH=۸/۰ و ۴۰ میلی‌گرم آرد حاصل از آندوسپرم پنج بذر استفاده شد (۶). نخست گلیادین‌ها با عمل هضم به مدت ۳۰ دقیقه در حلال A، سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه، و شست‌شوی دوباره با پنج میلی لیتر محلول A استخراج شدند. سپس از عصاره باقی‌مانده و با استفاده از ۰/۵ میلی لیتر محلول B، شامل یک درصد (W/V) دی‌تیوتریتول^۲، پنج دقیقه سانتریفیوژ، و سرانجام افزودن دوباره ۰/۵ میلی لیتر محلول B مخلوط شده با ۱/۴ درصد (V/V) از vp-4^۳ گلو تنین‌ها استخراج شدند.

فاز متحرک شامل آب دو بار تقطیر شده حاوی TFA ۰/۱ درصد به عنوان حلال A، و استونیتریل حاوی TFA ۰/۸۵ درصد به عنوان حلال B بود. ستون از نوع Nuclecil C18300A^۵ ۲۵۰×۴/۶mmID، با ابعاد ۴۰×۴/۶mmID از ستون محافظ سازگار ۴۰×۴/۶mmID بود. دستگاه HPLC از نوع شیماتزو^۴ و شامل سه پمپ^۵ A، B و C، محفظه اختلاط^۶، محفظه ستون^۷ (برای کنترل درجه حرارت)، دکتور^۸ کنترل کننده سیستم^۹ و کروماتوپک^{۱۰} (کامپیوتر، چاپگر و نرم‌افزار) بود.

در برنامه ریزی HPLC برای جداسازی پروتئین‌ها، از شیب غلظت (تجزیه Gradient) ۲۵، ۳۵، ۵۰ و ۷۵ درصد حلال B، به ترتیب در دقایق صفر، ۵، ۱۰ و ۱۸ استفاده شد. غلظت حلال B پس از ۲۱ دقیقه به ۲۵ درصد برگردانده شد. هم چنین، ۱۰ دقیقه برای تعادل دوباره ستون در نظر گرفته شد (کل زمان اجرا ۳۱ دقیقه). به علاوه، دمای ستون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و میزان جریان یک میلی لیتر در دقیقه بود، که در این شرایط فشار سیستم بین ۶۸ تا ۸۰ کیلوگرم نیرو بر سانتی‌متر مربع (معادل ۹۸۶-۱۱۶۰ psi)، یا کمی بیشتر متغیر بود. حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر بوده، و پروتئین‌ها در ۲۱۰ نانومتر شناسایی

- | | | |
|--|---------------------------------------|------------------------------|
| 1. 50% (V/V) propan-1-ol, 0.08M Tris HCl, pH 8.0 | 2. Dithiothreitol (DTT) | 3. Vinylpyridine |
| 4. Shimadzu LC-6A | 5. LC-6A | 6. Mix chamber |
| 7. Column Oven CTO-6A | 8. Spectrophotometric Detector UV-VIS | 9. System Controller SCL-L6A |
| 10. Chromatopac C-R4A | 11. Marquis | 12. Yecora rojo |

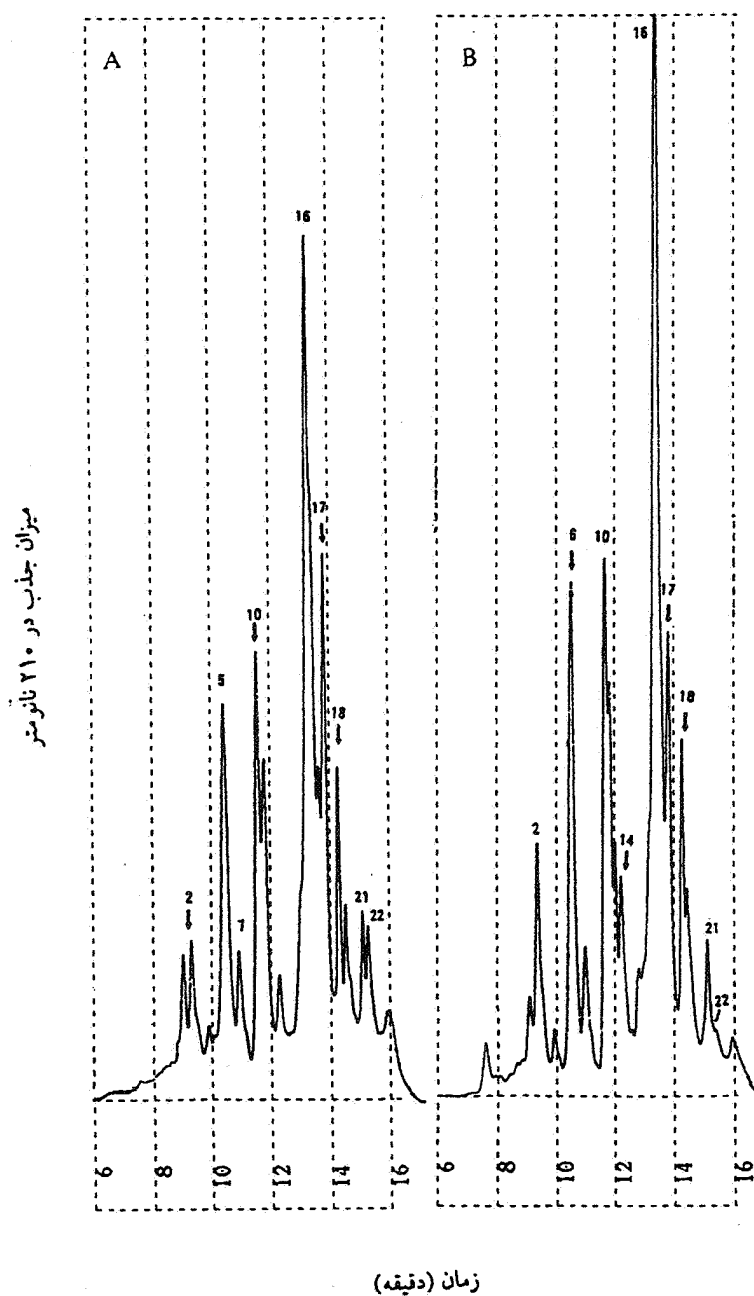
جدول ۱. میانگین زمان ماندگاری نقاط فراز و نتایج آزمون تفاوت معنی‌دار بین نقاط فراز همانند

درجه آزادی	مقدار t برای تفاوت	میانگین زمان ماندگاری (نقاط فراز دقیقه)	متغیر (زمان نقطه فراز)
۱۹	۷/۷۲***	۹/۲۵	۱
		۹/۳۳	۲
۱۷	۸/۴۸***	۹/۸۲	۳
		۹/۹۰	۴
۱۸	۵/۶۱***	۱۰/۴۲	۵
		۱۰/۵۰	۶
۱۸	۵/۵۸***	۱۰/۹۱	۷
		۱۱/۰۰	۸
۱۹	۶/۷۱***	۱۱/۵۴	۹
		۱۱/۶۴	۱۰
۱۴	۶/۰۲***	۱۱/۸۱	۱۱
		۱۱/۹۰	۱۲
-	-	۱۲/۰۳	۱۳
-	-	۱۲/۰۷	۱۴
-	-	۱۲/۷۶	۱۵
-	-	۱۳/۳۱	۱۶
-	-	۱۳/۸۰	۱۷
-	-	۱۴/۲۵	۱۸
-	-	۱۴/۴۹	۱۹
۱۹	۲۱/۵۰***	۱۵/۰۱	۲۰
		۱۵/۱۲	۲۱
		۱۵/۳۲	۲۲
۱۱	۵/۰۷***	۱۵/۸۲	۲۳
		۱۵/۹۱	۲۴

***: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

در ۲۸/۹ و ۴۳ درصد استونیتریل شسته شدند. آخرین زیر واحد با وزن مولکولی زیاد در ۳۴/۴۹ درصد استونیتریل شسته شد. در آزمایش‌های مارچیلو و همکاران (۲۰)، کروگر و مارچیلو

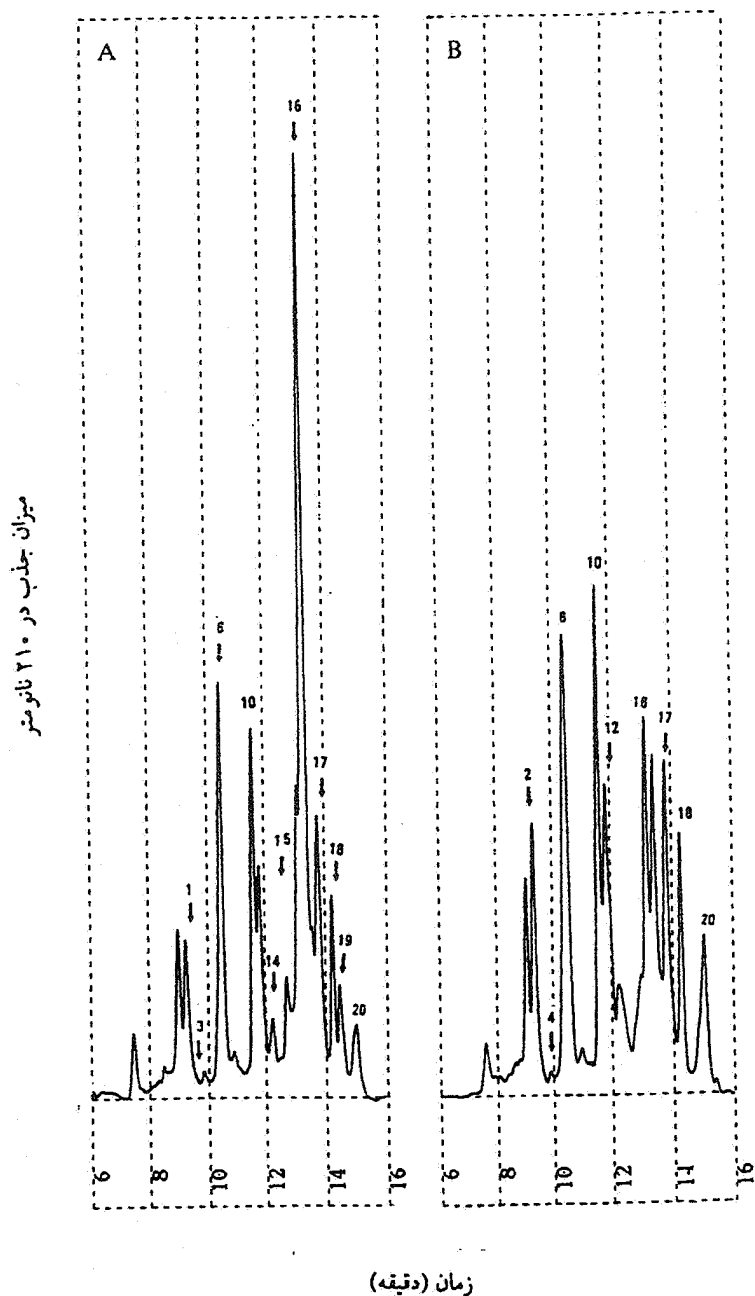
دادند. بر پایه نتایج به دست آمده، اولین و آخرین نقطه فراز به ترتیب در ۴۲/۵ و ۶۸/۴۷ درصد استونیتریل شسته شدند. در مطالعه بورنوف و بیتز (۷)، اولین و آخرین نقطه فراز به ترتیب



شکل ۱. کروماتوگرام زیرواحدهای گلوتنین در لاین اصلاحی شماره ۳ (A) و لاین اصلاحی شماره ۵ (B)

استفاده از شیب غلظت ۳۰ دقیقه‌ای ربط داد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که نقاط فرازی که حداقل تا ۵۶/۲۲ درصد استونیتریل (زمان ماندگاری ۱۲) شسته شده‌اند، جزء زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد می‌باشند؛ اگرچه در این مطالعه نیاز چندانی به این نتیجه‌گیری نیست.

(۱۷) و کاوکا و همکاران (۱۶)، اولین و آخرین زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد به ترتیب در ۲۷ و ۳۲ درصد استونیتریل شسته شدند. علت این که در این آزمایش اجزای گلوتنین حداقل در حدود ۶۳ درصد دیرتر شسته شده‌اند را می‌توان به شرایط متفاوت، مانند نوع ستون کروماتوگرافی و



شکل ۲. کروماتوگرام زیرواحدهای گلوکونین در ارقام مارکوییس و یوکورا راثو

زیرواحد با زمان ماندگاری ۹/۲۵ وجود دارد، در حالی که در لاین‌های ۵ و ۱۱ و ارقام مارکوییس، یوکورا راثو و فنیکس^۲ زیرواحد با زمان ماندگاری ۹/۳۳ دیده می‌شود. اختلاف آماری معنی‌دار این دو نقطه فراز بیانگر پلی‌پتیدهای متفاوت است، و

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، زمان ماندگاری برخی از نقاط فراز نزدیک به هم (مشابه) می‌باشد، ولی تفاوت آنها از نظر آماری معنی‌دار است، که کارایی زیاد ستون آن را فراهم ساخت. برای مثال، در لاین‌های ۳ و ۴ و رقم پورتولا^۱

1. Portola 2. Phenoix

می‌گردد (۸، ۹ و ۲۶). در حقیقت، با تصحیح برای جا به جایی کروموزومی (۲۲)، امتیاز کیفیت فلات برابر پنج می‌باشد. جدول ۲ نشان می‌دهد که امتیاز کیفیت ارقام زراعی بر پایه مکان ژنی Glu-۱ با مقدار رسوب هماهنگی خوبی ندارد، ولی در ارقام خارجی این امتیاز با مقدار رسوب هم‌خوانی دارد. به سخن دیگر، ژنوتیپ‌های آزمایش شده، با تأیید نظریه پرمارد و همکاران (۲۱)، نشان می‌دهند که در برخی از زمینه‌های ژنتیکی (مانند برخی از ارقام در جدول ۱)، زیرواحدهای گلو تئین با وزن مولکولی زیاد، به طور مستقیم تغییرات کیفیت را توجیه می‌کنند، در حالی که در برخی از زمینه‌های ژنتیکی دیگر، این هم‌بستگی وجود ندارد.

ضرایب هم‌بستگی بیانگر وجود ارتباط تنگاتنگ میان زیرواحدهای گلو تئین با وزن مولکولی کم و تغییرات مقدار رسوب با SDS بود، به طوری که ضرایب هم‌بستگی میان زیرواحدهای ۱۶ و ۲۰، با مقدار رسوب (به ترتیب ۰/۶۶ و ۰/۶۲-) از نظر آماری معنی‌دار بودند. هم چنین، نقاط فراز ۹، ۲۱، ۲۲ و ۱۰ هم‌بستگی معنی‌دار (به ترتیب ۰/۵۷-، ۰/۵۶، ۰/۵۳ و ۰/۵۳) با مقدار رسوب نشان دادند. با وجود این، هم‌بستگی دیگر نقاط فراز و مقدار رسوب معنی‌دار نبود. نتایج نشان می‌دهد که یکی از دلایل مهم برای تغییرات مقدار رسوب با SDS در ژنوتیپ‌های بررسی شده، ترکیب زیرواحدهای گلو تئین با وزن مولکولی کم است. زیرا دست کم پنج زیرواحدها با وزن مولکولی کم هم‌بستگی معنی‌دار با مقدار رسوب نشان دادند. از سوی دیگر، هم‌بستگی میان درصد پروتئین و مقدار رسوب معنی‌دار بود (۰/۷۱)، بنابراین درصد پروتئین نیز در تغییرات مقدار رسوب با SDS سهم می‌باشد. با وجود این، تنها هم‌بستگی درصد پروتئین با نقاط فراز ۱۶ و ۳ در سطح احتمال یک درصد (به ترتیب ۰/۷۱ و ۰/۶۰-) و با نقاط فراز ۱۴، ۲۱ و ۲۲ در سطح احتمال پنج درصد (به ترتیب ۰/۵۱-، ۰/۴۵ و ۰/۴۳) معنی‌دار گردید. این نتیجه، کارایی استفاده از مقادیر نسبی نقاط فراز را در از بین بردن اثر مقدار پروتئین نشان

نزدیکی زمان ماندگاری و سطح آب‌گریزی آنها نشان دهنده شباهت زیاد توالی اسیدهای آمینه آنها می‌باشد. در پژوهش‌های دیگر نیز تفاوت‌های بسیار جزئی در توالی‌های اسید آمینه‌های برخی از زیرواحدهای گلو تئین با وزن مولکولی زیاد (۲۶)، و همانندی سطوح آب‌گریزی زیرواحدهای گلو تئین (۱۹) گزارش شده است. این همانندی‌ها در نقاط فراز دیر شست‌شو شونده نیز دیده می‌شود.

ارقام مارکوئیس و یکورا راتو دارای نقاط فراز ۲۱ و ۲۲ بودند (شکل ۲)، اما برخی از ارقام اصلاح شده مانند لاین‌های ۳ و ۵ (شکل ۱)، و دیگر ژنوتیپ‌ها (شکل نشان داده نشده است)، دارای نقطه فراز ۲۰ بودند. این موضوع احتمالاً بیانگر پیوستگی ژنتیکی قوی میان ژن‌های کد کننده نقاط فراز ۲۱ و ۲۲ می‌باشد. با این حال، نقاط فراز ۱۶، ۱۷ و ۱۸ در کلیه ژنوتیپ‌ها وجود داشتند، ولی زیرواحدها ۲۳ فقط در لاین‌های ۵ و ۱۱ رقم پورتولا دیده شد. امتیاز کیفیت ژنوتیپ‌ها از لحاظ مکان ژنی Glu-۱، طبق روش پاین و لاورنس (۲۲)، همراه با مقادیر رسوب با SDS ژنوتیپ‌ها در جدول ۲ آورده شده است. امتیاز کیفیت برای کلیه ژنوتیپ‌ها (بجز ارقام انزا^۱، تانوری^۲ و فنیکس) بالا بود (۸ > امتیاز). بنابراین، انتظار می‌رود که از کیفیت خوبی برخوردار باشند. با وجود این، مقادیر رسوب این نتیجه را تأیید نکرد. بنابر برخی از گزارش‌ها، همچون پژوهش اسماعیل‌زاده (۱) و رضایی (۳) مقدار رسوب با SDS هم‌بستگی مثبت و معنی‌داری با دیگر پارامترهای کیفیت دارد.

چنان که در جدول ۱ نشان داده شده است، ۱۰ ژنوتیپ دارای امتیاز کیفیت ۸ می‌باشند، با وجود این، فقط سه ژنوتیپ (پیتیک^۳، پورتولا و سیت سروس^۴) ارتفاع رسوب زیاد دارند. در ژنوتیپ‌های دیگر نیز تفاوت‌های چشم‌گیری دیده می‌شود. مثلاً مقدار رسوب برای رقم فلات زیاد، ولی برای لاین اصلاحی ۳ نسبتاً زیاد است. البته، امیری و همکاران (۲) به وجود جا به جایی IBL/IRS از چاودار در ژنوم فلات اشاره کرده‌اند. این جا به جایی کروموزومی منجر به کاهش کیفیت

جدول ۲. ترکیب و امتیاز مکان ژنی Glu-1 و ارتفاع رسوب با SDS در ژنوتیپ‌های گروه اول

ژنوتیپ	Glu-A ₁	Glu-B ₁	Glu-D ₁	امتیاز ^۱	ارتفاع رسوب با SDS (میلی‌متر)
۱ (فلات)	۲ [#]	۱۷+۱۸	۲+۱۲	۸	۱۹/۵
۲	۲ [#]	۱۷+۱۸	۵+۱۰	۱۰	۴۴/۳
۳	۲ [#]	۱۷+۱۸	۲+۱۲	۸	۵۳/۷
۴	۲ [#]	۷+۸	۲+۱۲	۸	۳۳/۶
۵	۲ [#]	۷+۹	۵+۱۰	۹	۳۰/۲
۶	null	۷+۸	۵+۱۰	۸	۳۵/۸
۷	۲ [#]	۷	۵+۱۰	۸	۴۱/۲
۸	۲ [#]	۷+۸	۲+۱۲	۸	۴۲/۴
۹	۲ [#]	۷+۹	۵+۱۰	۹	۴۴/۶
۱۰	۲ [#]	۷+۹	۵+۱۰	۹	۴۹
۱۱	null	۷+۸	۵+۱۰	۸	۳۵/۵
۱۲	۲ [#]	۷+۹	۵+۱۰	۹	۳۵/۸
انزا	null	۷+۸	۲+۱۲	۶	۳۳/۹
مارکوئیس	۲ [#]	۷+۹	۵+۱۰	۹	۹۰
یکورا راثو	۱	۱۷+۱۸	۵+۱۰	۱۰	۱۰۲/۵
تانوری	null	۷+۸	۲+۱۲	۶	۶۴/۱
پورتولا	۲ [#]	۷+۸	۲+۱۲	۸	۸۴/۸
سیت سروس	۲ [#]	۱۷+۱۸	۲+۱۲	۸	۹۲/۴
پیتیک	۱	۷+۸	۲+۱۲	۸	۸۹/۹
فنیکس	null	۷+۸	۲+۱۲	۶	۸۱/۷
یکورا بلانکو	۱	۱۷+۱۸	۵+۱۰	۱۰	۵۳/۴

۱. بر پایه امتیازبندی پاین و لاورنس (۲۲).

را برای زیرواحدهای گلوٲتین، درصد پروٲتین و مقدار رسوب با SDS نشان می‌دهد. مؤلفه‌های اصلی اول تا چهارم به ترتیب ۲۶، ۱۴، ۱۳ و ۱۱ درصد از تغییرات داده‌ها را توجیه کردند (در مجموع ۶۴ درصد). مقایسه این نتایج با یافته‌های امیری و همکاران (۲)، مبنی بر این که در سه گروه از ژنوتیپ‌های مورد بررسی در حدود ۸۵، ۷۰ و ۷۳ درصد از تغییرات داده‌های

می‌دهد. ظاهراً به رغم نرمال سازی داده‌ها، تفاوت زیاد درصد پروٲتین (۸ تا ۱۶/۳ درصد) مانع از بین رفتن کامل اثر مقدار پروٲتین شده است.

تابع ژنتیکی برای برآورد مقدار رسوب

تجزیه مؤلفه‌های اصلی: جدول ۳ نتایج تجزیه مؤلفه‌های اصلی

معکوس) می‌باشد.

میان نقاط فرازی که تنها در یک مؤلفه با مقدار رسوب هم‌نشان هستند، نقاط فراز ۲ و ۱۰ در مؤلفه اصلی اول، و نقطه فراز ۱۶ در مؤلفه اصلی دوم، بیشترین هم‌بستگی را با مؤلفه‌های مربوط داشتند. بنابراین، نقاط فراز ۲، ۱۰ و ۱۶ نیز زیرواحدهای مهمی می‌باشند. با وجود این، سهم نقطه فراز ۲ بیشتر از نقطه فراز ۱۰ است، زیرا هم‌بستگی بیشتری با مؤلفه اصلی اول دارد. برخی از نتایج حاضر، برخلاف مقادیر هم‌بستگی ساده نقاط فراز و مقدار رسوب با SDS است. برای مثال، هم‌بستگی نقاط فراز ۲ و ۱۱ با مقدار رسوب معنی‌دار نبود. این موضوع نشان می‌دهد که تجزیه مؤلفه‌های اصلی روابطی فراتر از ضرایب هم‌بستگی ساده را آشکار می‌سازد.

تجزیه رگرسیون مرحله‌ای

برای شناسایی ترکیباتی از زیرواحدهای گلوئین که بیشترین مقدار از تغییرات رسوب با SDS را تبیین می‌کنند، تجزیه رگرسیون مرحله‌ای به کار رفت (جدول ۴). نقطه فراز ۱۶ (گلوئین با وزن مولکولی کم) نخستین متغیری بود که وارد مدل شد، و ۴۴/۲ درصد از تغییرات مقدار رسوب را توجیه نمود. با وارد شدن نقطه فراز ۲۰ (مربوط به گلوئین با وزن مولکولی کم) به مدل، در مجموع ۷۰/۲ درصد از تغییرات متغیر تابع توجیه گردید. با توجه به شکل‌های ۱ و ۲، و هم‌بستگی معنی‌دار بین نقطه فراز ۱۶ و درصد پروتئین (۰/۶۶)، روشن است که این نقطه فراز تفاوت‌های کمی و کیفی را توجیه می‌کند. بنابراین، دست کم سه چهار پلی‌پپتید از زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی کم (دو نقطه فراز)، بخش عمده‌ای از تغییرات مقدار رسوب را تعیین می‌نمایند. در مراحل بعدی نقاط فراز ۷، ۳، ۱۱ و ۲، که مربوط به گلوئین‌های با وزن مولکولی زیاد می‌باشند به مدل افزوده شدند، و به ترتیب ۱۰، ۷، ۴/۵، ۳/۷ و ۳/۵ درصد از تغییرات متغیر مقدار رسوب را توجیه کردند. این نتیجه، با نتایج تجزیه مؤلفه‌های اصلی هماهنگی دارد. از مجموع ۸۸/۹ درصد از تغییرات توجیه شده مقدار رسوب با

گلیادین به وسیله چهار مؤلفه اصلی اول توجیه می‌گردد، نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های آزمایش شده زیاد است. با توجه به این که در این پژوهش لاین‌های اصلاحی ایرانی همراه با ارقام زراعی خارجی بررسی شده است، این نتیجه توجیه‌پذیر است.

بر پایه هم‌بستگی میان مؤلفه‌ها و متغیرها (در سطح احتمال پنج درصد) مؤلفه اصلی اول نقاط فراز ۲، ۴، ۶، ۱۰، ۲۱ و ۲۲، درصد پروتئین و مقدار رسوب را با نقاط فراز ۱، ۳، ۵، ۹ و ۲۰ مقایسه می‌کند. مؤلفه اصلی دوم نقاط اوج ۱۱، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۱، ۲۲ و ۲۴، درصد پروتئین و مقدار رسوب را با نقاط فراز ۱۲ و ۲۳، و مؤلفه اصلی سوم نقاط فراز ۴، ۷، ۱۳، ۱۷، ۱۸، ۲۰ و ۲۴ را با نقاط فراز ۳، ۱۱ و ۱۵ و مقدار رسوب، و سرانجام مؤلفه اصلی چهارم نقاط فراز ۸ و ۱۴ را با نقاط فراز ۷ و ۱۶ مقایسه می‌نماید. به سخن دیگر، مؤلفه اصلی اول نشان می‌دهد که پراکنش تغییرات نقاط فراز ۲، ۴، ۶، ۱۰، ۲۱ و ۲۲ و درصد پروتئین با مقدار رسوب با SDS هم‌جهت است. در حالی که نقاط فرازی که با مؤلفه اصلی اول هم‌بستگی منفی دارند، در جهت مخالف با مقدار رسوب می‌باشند. نکته جالب این که هم‌بستگی نقاط فراز ۲، ۴ و ۶ با ارتفاع رسوب معنی‌دار نبود.

از سوی دیگر، نقاط فراز ۳، ۴، ۷، ۱۱، ۱۳، ۱۶، ۲۰، ۲۱، ۲۲ و ۲۴، درصد پروتئین و مقدار رسوب با SDS دست کم در دو مؤلفه اصلی شرکت دارند. این موضوع بیانگر اهمیت بیشتر این متغیرها در توجیه تغییرات داده‌ها است. از میان این متغیرها، تنها زیرواحدهای ۱۱، ۲۱ و ۲۲، دست کم در هر دو مؤلفه با مقدار رسوب ضریب هم‌نشان بودند. این موضوع نشان می‌دهد که این سه نقطه فراز، برای توجیه تغییرات مقدار رسوب پلی‌پپتیدهای مهمی هستند. نقاط فراز ۲۱ و ۲۲ باید مهم‌تر از نقطه فراز ۱۱ باشند، زیرا هم‌بستگی آنها در هر دو مؤلفه، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. هم‌چنین، میان کلیه نقاط فراز، تنها نقطه فراز ۲۰ در دو مؤلفه اصلی اول و سوم با مقدار رسوب مقایسه می‌شود. بنابراین، نقطه فراز ۲۰ زیرواحد ارزشمندی برای توجیه تغییرات مقدار رسوب (در جهت

جدول ۳. نتایج تجزیه مؤلفه‌های اصلی برای زیرواحدهای گلوتهین، درصد پروتئین و ارتفاع رسوب با SDS در ژنوتیپ‌های گروه اول

زیرواحد (نقطه فراز ^۱) و صفت	بردارهای ویژه				همبستگی متغیرها با مؤلفه‌ها			
	مؤلفه اصلی اول	مؤلفه اصلی دوم	مؤلفه اصلی سوم	مؤلفه اصلی چهارم	مؤلفه اصلی اول	مؤلفه اصلی دوم	مؤلفه اصلی سوم	مؤلفه اصلی چهارم
۱	-۰/۳۳	۰/۱۸	-۰/۰۲	-۰/۱۰	-۰/۸۵**	۰/۳۴	-۰/۰۴	-۰/۱۷
۲	۰/۳۰	-۰/۲۱	۰/۰۰۹	۰/۱۱	۰/۷۸**	-۰/۴۰	۰/۰۲	۰/۱۹
۳	-۰/۳۰	۰/۰۴	-۰/۲۴	۰/۱۶	-۰/۷۷**	۰/۰۸	-۰/۴۵*	۰/۲۶
۴	۰/۲۳	-۰/۱۰	۰/۳۲	-۰/۱۰	۰/۶۱**	-۰/۱۹	۰/۵۹**	-۰/۱۷
۵	-۰/۲۹	۰/۰۸	-۰/۰۳	-۰/۰۶	-۰/۷۶**	۰/۱۶	-۰/۰۶	-۰/۱۱
۶	۰/۲۹	-۰/۱۱	-۰/۰۵	۰/۰۷	۰/۷۷**	-۰/۲۰	-۰/۰۹	۰/۱۳
۷	-۰/۰۵	۰/۰۰۹	۰/۲۹	-۰/۳۱	۰/۱۳	۰/۰۲	۰/۵۳*	-۰/۵۱*
۸	۰/۰۷	-۰/۰۵	-۰/۱۸	۰/۴۶	۰/۱۸	-۰/۱۰	-۰/۳۴	۰/۷۷**
۹	-۰/۲۷	۰/۱۱	۰/۱۷	۰/۱۹	-۰/۷۱**	۰/۲۰	۰/۳۲	۰/۳۱
۱۰	۰/۲۵	-۰/۱۴	-۰/۱۹	-۰/۲۲	۰/۶۶**	-۰/۲۸	-۰/۳۵	۰/۳۶
۱۱	-۰/۱۱	۰/۲۲	-۰/۲۳	-۰/۱۱	-۰/۲۹	۰/۴۲*	-۰/۴۲*	-۰/۱۸
۱۲	۰/۱۴	-۰/۳۴	-۰/۰۰۸	۰/۰۶	۰/۳۶	-۰/۶۴**	-۰/۰۲	۰/۰۹
۱۳	۰/۰۹	۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۱۳	۰/۲۳	۰/۴۲*	۰/۴۵*	۰/۲۲
۱۴	-۰/۱۳	-۰/۰۵	۰/۰۷	۰/۲۷	-۰/۳۵	-۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۴۵*
۱۵	۰/۰۳	-۰/۱۱	-۰/۳۲	۰/۰۸	۰/۰۷	-۰/۲۱	-۰/۵۹**	۰/۱۴
۱۶	۰/۱۳	۰/۲۵	-۰/۱۰	-۰/۳۹	۰/۳۳	۰/۴۷*	-۰/۱۸	-۰/۶۶**
۱۷	۰/۰۳	-۰/۰۶	۰/۳۰	-۰/۰۵	۰/۰۸	-۰/۱۱	۰/۵۵**	-۰/۰۸
۱۸	۰/۰۵	-۰/۱۰	۰/۳۲	۰/۱۱	۰/۱۲	-۰/۱۹	۰/۵۹**	۰/۱۹
۱۹	۰/۰۲	۰/۲۲	۰/۰۸	۰/۲۱	۰/۰۵	۰/۴۱*	۰/۱۴	۰/۳۴
۲۰	-۰/۲۰	-۰/۱۹	۰/۲۴	-۰/۱۰	-۰/۵۲*	-۰/۳۶	۰/۴۵*	-۰/۱۷
۲۱	۰/۲۳	۰/۳۱	-۰/۰۳	۰/۲۴	۰/۵۹**	۰/۵۹**	-۰/۰۶	۰/۴۰
۲۲	۰/۲۲	۰/۳۰	-۰/۰۲	۰/۲۱	۰/۵۷**	۰/۵۸**	-۰/۰۵	۰/۳۶
۲۳	۰/۰۷	-۰/۳۱	-۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۱۷	-۰/۶۰**	-۰/۱۴	۰/۰۲
۲۴	۰/۱۴	۰/۲۷	۰/۳۲	۰/۱۷	۰/۳۶	۰/۵۲*	۰/۶۰**	۰/۲۸
درصد پروتئین	۰/۲۲	۰/۲۶	۰/۰۳	-۰/۲۱	۰/۵۸**	۰/۵۰*	۰/۰۶	-۰/۳۶
رسوب با SDS	۰/۲۵	۰/۲۲	-۰/۲۴	-۰/۱۵	۰/۶۵**	۰/۴۲	-۰/۴۴*	-۰/۲۶
مقدار ویژه	۶/۸۳۰	۳/۶۴۲	۳/۳۹۵	۲/۸۱۰				
مقدار ویژه تجمعی (%)	۲۶	۴۰	۵۳	۶۴				

۱. بر پایه میانگین زمان ماندگاری در جدول ۱ * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

تفاوت‌هایی کمی و کیفی به چشم می‌خورد. برای مثال، رقم علی‌آباد نقاط فراز ۴ و ۱۲ را ندارد، که در رقم بومی عقدا دیده می‌شود. در نقطه مقابل، رقم بومی عقدا نقاط فراز ۳ و ۱۱ را ندارد. هم‌چنین، مقدار نقطه فراز ۷ در رقم بومی عقدا بیش از رقم علی‌آباد بود. نقاط فراز ۲۱ و ۲۲، افزون بر دو رقم بومی اخیر و ارقام مارکوییس و یکورا راثو، در کروماتوگرام‌های ارقام بومی مروارید، سفید بافقی، سفید صالحات و رقم روشن نیز وجود داشت (شکل‌ها نشان داده نشده است). این نتایج، ارزش ژنتیکی ارقام بومی ایرانی را نشان می‌دهد. زیرا همان‌گونه که قبلاً دیده شد، این نقاط فراز هم‌بستگی معنی‌داری با مقدار رسوب با SDS نشان دادند.

جدول ۵ مقدار رسوب با SDS ژنوتیپ‌ها و نتیجه طبقه بندی آنها بر پایه تابع تشخیص و قاعده اختصاص (۱۴) را نشان می‌دهد. ژنوتیپ‌هایی که در جامعه ۱ قرار گرفتند (سفید بافقی، قرمز بافقی، ماهونی، بومی عقدا، علی‌آباد، اینیا^۳، هیرمند و برکت)، دارای مقدار رسوب بیش از ۵۰ می‌باشند. هم‌چنین، از ژنوتیپ‌هایی که به جامعه ۲ اختصاص یافتند، تنها رقم کراس سرخ تخم، که روی خط تشخیص دهنده قرار دارد، به اشتباه طبقه بندی شده است.

با توجه به تنوع کم مقدار رسوب با SDS در ژنوتیپ‌های اخیر، توانایی تابع تشخیص در طبقه بندی صحیح آنها، کارایی زیادی را نشان می‌دهد، و اثرهای افزایشی زیرواحدهای گلوٲنن با وزن مولکولی زیاد و کم را در تبیین کیفیت گندم تأیید می‌نماید. در وارسته آذر تعیین مقدار رسوب با SDS به علت کمبود بذر میسر نگردید. با وجود این، امتیاز کیفیت آن زیاد است. این موضوع اهمیت روش‌هایی را که در آنها از نمونه‌هایی به کوچکی یک دانه استفاده می‌شود، برای غربال نمودن نسل‌های اولیه در برنامه اصلاحی نشان می‌دهد.

سرانجام، ژنوتیپ‌هایی که تابع تشخیص در آنها تعیین گردید، تفاوت‌های ژنتیکی چشم‌گیری با ژنوتیپ‌های گروه دوم داشتند. بنابراین، درستی و دقت تابع تشخیص نشان می‌دهد که

SDS، زیر واحدهای با وزن مولکولی کم و زیاد، به ترتیب ۷۰/۲ و ۱۸/۷ درصد از تغییرات را توجیه نمودند. این نتیجه، مؤید نتایج گوٲتا و همکاران (۱۰) در رقم گندم استرالیایی، پریمارد و همکاران (۲۱) و هانبر و بیتز (۱۱، ۱۲ و ۱۳) است، ولی برخلاف نظر پاین و همکاران (۲۴) می‌باشد.

معادله رگرسیون به دست آمده شامل ترکیبی از زیرواحدهای گلوٲنن با وزن مولکولی زیاد و کم است، بنابراین به نظر می‌رسد کارایی چشم‌گیری در توجیه تغییرات مقدار رسوب با SDS (و احتمالاً دیگر پارامترهای کیفیت پخت) ژنوتیپ‌های گوناگون داشته باشد. با وجود این، کارایی این تابع احتمالاً با استفاده از فاکتورهای دیگر پروٲینی، به ویژه گلیادین‌ها، افزایش خواهد یافت. البته، برخی از تغییرات توجیه نشده آثار محیطی هستند.

تابع ژنتیکی

تجزیه تابع تشخیص بر پایه نقاط فراز حاصل از تجزیه رگرسیون مرحله‌ای به صورت زیر بود:

$$Y = -33/601 + 0/87x_1 - 1/239x_2 - 0/78x_3 + 1/624x_4 + 1/209x_5 + 0/392x_6$$

(اندیس متغیرهای x شماره زیرواحد گلوٲنن، طبق جدول ۱ است).

با توجه به فراوانی بیشتر ژنوتیپ‌های با کیفیت کم، احتمال پیشین جامعه ۱ (ژنوتیپ‌های با ارتفاع رسوب بیشتر از ۵۰) برابر ۰/۴ و احتمال پیشین جامعه ۲ (ژنوتیپ‌های با ارتفاع رسوب کمتر از ۵۰) برابر ۰/۶ در نظر گرفته شد (۱۴). میزان اشتباه آشکار^۱ و اشتباه واقعی^۲ بسیار کم بود (به ترتیب ۰/۰۴ و ۰/۱۷)، بنابراین کارایی تابع زیاد است (۱۴).

برای ارزیابی تابع تشخیص، از ۱۵ ژنوتیپ گندم دیگر، شامل ۱۰ رقم بومی و ۵ رقم زراعی ایرانی، استفاده گردید. شکل ۳ کروماتوگرام‌های گلوٲنن ارقام بومی علی‌آباد و بومی عقدا را نشان می‌دهد. همانند شکل‌های پیشین، در این جا نیز

1. Apparent error rate
2. Actual error rate
3. Inia

جدول ۴. نتایج رگرسیون مرحله‌ای ارتفاع رسوب با SDS به عنوان متغیر تابع، و زیرواحدهای گلوئین به عنوان متغیر مستقل

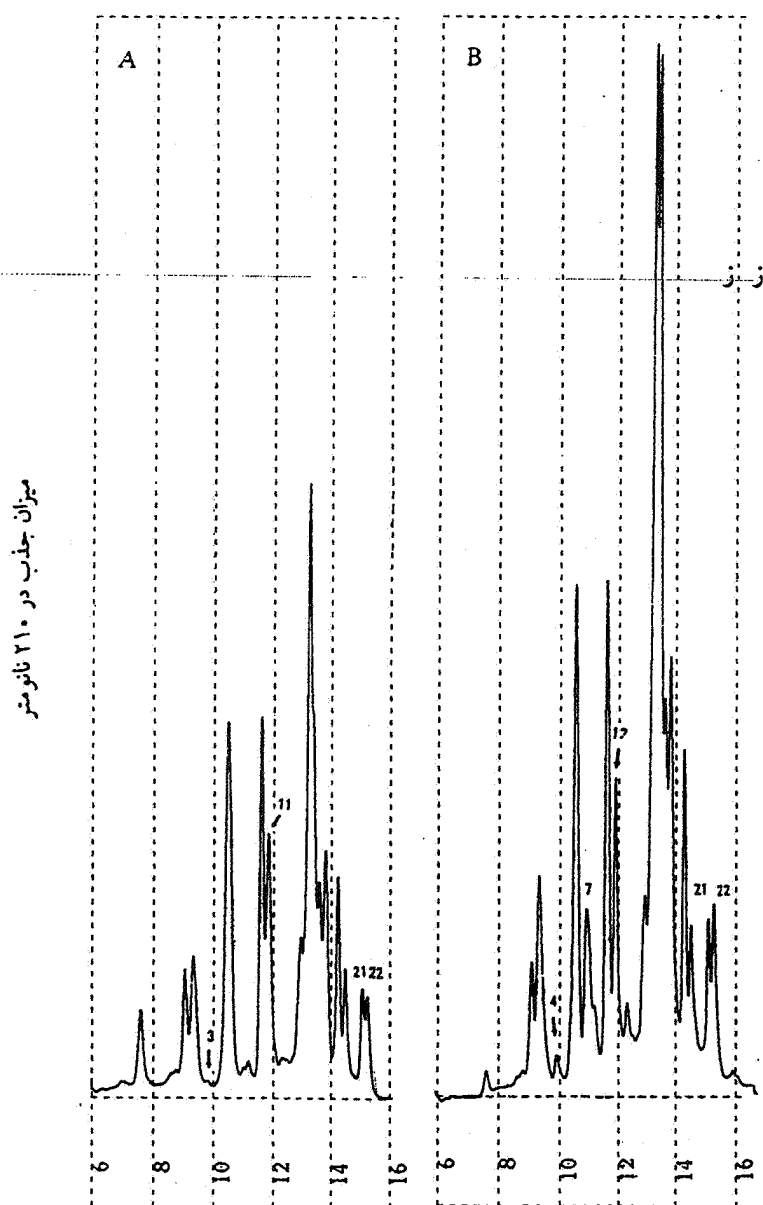
ضریب	ضریب	ضرایب رگرسیون					عرض از مبدأ	زیرواحد اضافه شده به مدل
		b_6	b_5	b_4	b_3	b_2		
۰/۴۴۲	۰/۴۴۲					۴/۶۵۰	-۵۱/۸۴۸	۱۶
۰/۷۰۲	۰/۲۶۱					-۶/۲۵۱	۴/۰۰۲	۲۰
۰/۷۷۳	۰/۰۷۱				-۲/۵۶۴	-۵/۶۴۷	۴/۳۵۰	۷
۰/۸۱۸	۰/۰۴۵			-۲/۶۷۳	-۲/۸۰۱	-۵/۴۴۶	۴/۰۰۹	۳
۰/۸۵۵	۰/۰۳۷		۱/۹۰۳	-۳/۸۶۴	-۳/۱۱۶	-۴/۴۰۳	۳/۸۱۶	۱۱
۰/۸۸۹	۰/۰۳۵	۲/۵۶۰	۳/۱۴۵	-۲/۱۸۹	-۳/۰۶۸	-۲/۲۵۷	۴/۴۳۸	۲
		۵/۰۴۲*	۴/۳۳۳	۴/۳۸۶	۵/۹۳۶*	۱۷/۴۸۶**	۱۶/۶۰۷**	مقدار F جزء در مدل
								نهایی

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۵. ارزیابی کارایی تابع تشخیص چند متغیره

ارتفاع رسوب با SDS (میلی متر)	طبقه‌بندی به جامعه ^۱	ژنوتیپ
۶۰/۳	۱	سفید بافتی
۵۲/۲	۱	قرمز بافتی
۶۵/۴	۱	ماهونی
۴۸	۲	سرخه
۴۲/۷	۲	مروارید
۶۲/۹	۱	یومی عقدا
۵۸/۲	۱	علی آباد
۵۰/۸	۲	کراس سرخ تخم
۴۹	۲	شهداس
۴۵	۲	سفید صالحات
۴۵/۳	۲	روشن
۹۲	۱	ایتیا
-	۱	آذر
۵۱/۵	۱	هیرمند
۶۵/۴	۱	برکت

۱. جوامع ۱ و ۲ به ترتیب بیانگر ارتفاع رسوب با SDS بیشتر و کمتر از ۵۰ می‌باشند.



شکل ۳. کروماتوگرام زیرواحدهای گلوکتین در رقم بومی علی آباد (A) و رقم بومی عقدا (B) زمان (دقیقه)

بیشتری، در محیط‌های گوناگون، و با چندین پارامتر کیفیت بررسی شود. اگرچه، مقدار رسوب با SDS با بسیاری از پارامترهای کیفیت هم‌بستگی معنی داری نشان می‌دهد.

ارتباط مشاهده شده را احتمالاً می‌توان به بسیاری از زمینه‌های ژنتیکی گسترش داد. با این حال، این نتایج در ۳۶ ژنوتیپ گندم نان و مقدار رسوب با SDS به دست آمد. به منظور فراهم آوردن نتایج جامع‌تر برای برآورد خواص خمیر، باید ژنوتیپ‌های

منابع مورد استفاده

۱. اسماعیل زاده مقدم، م. ۱۳۷۵. بررسی اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط بر کیفیت نانوائی گندم و ارتباط آن با زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا در چندین لاین. پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. امیری، ر.، ع. م. رضایی، م. شاهدی و ش. دخانی. ۱۳۷۸. استفاده از کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا (RP-HPLC) در بررسی تنوع ژنتیکی گندم نان. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۳(۳): ۴۱-۶۰.
۳. رضایی، ع. م. ۱۳۷۵. رابطه بین کیفیت آرد و زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی بالا در گندم. مجله علوم کشاورزی ایران ۲۶(۲): ۱۱-۲۱.
4. Andrews, J. L., R. L. H. Skerritt and K. H. Sutton. 1994. HPLC and immunoassay-based glutenin subunits analysis: Screening for dough properties in wheats grown under different environmental conditions. *J. Cereal Sci.* 20: 203-215.
5. Axford, D. W. E., E. E. McDermott and D. G. Reduman. 1979. Note on the sodium dodecyl sulfate test and breadmaking quality: Comparison with Pelshenke and Zeleny tests. *Cereal Chem.* 56(5): 582-584.
6. Biets, J. A. 1985. High-performance liquid chromatography: How proteins look in cereals. *Cereal Chem.* 62(3): 201-212.
7. Burnouf, T. and J. A. Bietz. 1985. Chromosomal control of glutenin subunits in aneuploid lines of wheat: Analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Theor. Appl. Genet.* 70: 610-619.
8. Graybosch, R. A., C. J. Peterson, L. E. Hansen and P. J. Mattern. 1990. Relationships between protein solubility characteristics, 1BL/1RS, high molecular weight glutenin composition, and end-use quality in winter wheat germplasm. *Cereal Chem.* 67: 345.
9. Graybosch, R. A., C. J. Peterson, L. E. Hansen, D. Worrall, D. R. Shelton and A. Lukaszewski. 1993. Comparative flour quality and protein characteristics of 1BL/1RS and 1AL/1RS wheat-rye translocation lines. *J. Cereal Sci.* 17: 95-106.
10. Gupta, R. B., F. Bekes and C. W. Wrigley. 1991. Prediction of physical dough properties from glutenin subunit composition in bread wheats: Correlation studies. *Cereal Chem.* 68(4): 328-333.
11. Huebner, F. R. and J. A. Bietz. 1987. Improvements in wheat protein analysis and quality prediction by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* 64(1): 15-20.
12. Huebner, F. R. and J. A. Bietz. 1993. Improved chromatographic separation and characterization of ethanol-soluble wheat proteins. *Cereal Chem.* 70(5): 506-511.
13. Huebner, F. R. and J. A. Bietz. 1994. RP-HPLC for assessment of quality in cereals and legumes. breadmaking quality (wheat). PP: 206-234. *In: J. E. Kruger and J. A. Bietz (Eds.), High-Performance Liquid Chromatography of Cereal and Legume Proteins.* AACC Inc., St. Paul, MN, USA.
14. Johnson, R. A. and D. W. Wichern. 1988. *Applied Multivariate Statistical Analysis.* Prentice Hall International Inc., USA.
15. Khan, K., G. Tamminga and O. Lukow. 1989. The effect of wheat flour proteins on mixing and baking. Correlation with protein and high molecular weight glutenin subunit composition by gel electrophoresis. *Cereal Chem.* 66(4): 391-395.
16. Kawka, A., P. K. W. Ng and W. Buskuk. 1992. Equivalence of high molecular weight glutenin prepared by reversed-phase high-performance liquid chromatography and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Cereal Chem.* 69(1): 92-96.

17. Kruger, J. E. and B. A. Marchylo. 1990. Analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography of changes in high molecular weight subunit composition of wheat storage proteins during germination. *Cereal Chem.* 67(2): 141-147.
18. MacRitchie, F., D. L. Ducros and C. W. Wrigley. 1990. Flour polypeptides related to wheat quality. *Adv. Cereal Sci. Technol.* 10: 79-83.
19. Marchylo, B. A., J. E. Kruger and D. W. Hatcher. 1989. Quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of wheat storage proteins as a potential tool. *J. Cereal Sci.* 9: 113-130.
20. Marchylo, B. A., D. W. Hatcher, J. E. Kruger and J. J. Kirkland. 1992. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of wheat proteins using a new, highly stable column. *Cereal Chem.* 69(4): 371-378.
21. Primard, S., R. A. Graybosch, C. J. Pererson and J. H. Lee. 1991. Relationships between gluten protein composition and quality characteristics in four populations of high-protein, hard red winter wheat. *Cereal Chem.* 68(3): 305-312.
22. Pyne, P. I. and G. J. Lawrence. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for the high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.* 11: 29-35.
23. Pyne, P. I., K. G. Cornfield, L. M. Holt and J. A. Blackman. 1981. Correlations between the inheritance of certain high-molecular weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *J. Sci. Food Agric.* 32: 51-60.
24. Pyne, P. I., M. A. Nightingale, A. F. Krattiger and L. M. Holt. 1987. The relationship between HMW glutenins subunit composition and the breadmaking quality of British-grown wheat varieties. *J. Sci. Food Agric.* 40: 51-65.
25. SAS. 1988. SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
26. Shewry, P. R., N. G. Halford and A. S. Tatham. 1992. High molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 15: 105-120.