علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم/ شماره سوم/ ۱۳۹۹ (۴۰۴ - ۳۹۱)

DOI: 10.22124/jms.2019.4599

مطالعه خصوصیات زراعی و بیوشیمیایی پروتئین‌های دانه در ژنوتیپ‌های مختلف سویا [*Glycine Max* (L.) Merrill]

مهدی عارف‌راد[۱*]، نادعلی بابائیان جلودار[۲]، قربانعلی نعمت‌زاده[۳]، علی دهستانی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۸/۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۶/۳

چکیده

دانه سویا یکی از منابع اصلی تولید روغن و پروتئین در جهان محسوب می‌شود. از طرفی دیگر دانه سویا به جهت پروتئین‌های مطلوب و ارزان یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی است که به‌طور مستقیم و یا غیر مستقیم (در صنعت دامپروری) در جیره غذایی انسان قرار دارد. در این تحقیق برخی از خصوصیات زراعی (مانند ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد غلاف‌ها، وزن دانه، عملکرد دانه و زمان رسیدن) و همچنین خصوصیات کیفی دانه (شامل میزان پروتئین‌های قابل حل، میزان بازدارنده‌های پروتئازی و میزان پروتئین لکتین) در شش لاین موتانت و نه رقم زراعی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که لاین‌های موتانت 032-240-D-P4 و 032-240-D-P1 علاوه بر صفات زراعی مطلوب، دارای پتانسیل بالایی در عملکرد دانه می‌باشند. از نظر خصوصیات کیفی پروتئین‌های دانه نیز ارقام زراعی نکادر و کاسپین به‌ترتیب بیش‌ترین میزان پروتئین و همچنین بیش‌ترین میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای آلبومین و گلوبولین را دارا بودند. همچنین ارزیابی میزان فاکتورهای ضد تغذیه‌ای نیز مشخص نمود که لاین‌های موتانت به‌همراه رقم زراعی آرین در مقایسه با ارقام رایج زراعی کم‌ترین میزان بازدارنده‌های پروتئازی (PIA) و پروتئین لکتین (HAU) را دارا می‌باشند. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که لاین موتانت 032-240-D-P4 در مقایسه با دیگر ارقام رایج زراعی با عملکرد دانه بیش‌تر و همچنین با کم‌ترین میزان فاکتورهای ضدتغذیه‌ای می‌تواند به‌عنوان واریته جدید مورد مطالعه بیش‌تری قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بازدارنده‌های پروتئازی، پروتئین‌های ضدتغذیه‌ای، پروتئین لکتین، سویا، صفات زراعی

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی و مهندسی ژنتیک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، ساری، ایران
۲- استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۳- استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، ساری، ایران
۴- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، ساری، ایران.
*نویسنده مسئول: Mehdiarefrad@yahoo.com

مقدمه

سویا به جهت داشتن حدود ۴۰ درصد پروتئین و ۲۰ درصد روغن در دانه‌های خود، به‌عنوان یک گیاه مهم محسوب شده و یکی از منابع اصلی تولید روغن و پروتئین در جهان به‌شمار می‌رود (Hymowitz ana Kaizuma, 2008). از طرفی دیگر پروتئین سویا در مقایسه با سایر پروتئین‌های گیاهی دارای لیزین بیش‌تری نیز می‌باشد که می‌تواند مکمل مناسبی برای پروتئین غلات که لیزین ضعیفی دارند باشد (Zarkadas *et al.*, 2007). به جهت خصوصیات تغذیه‌ای مطلوب در دانه‌های سویا مانند پروتئین بالا و همچنین ترکیبات مهمی چون مواد معدنی و فیبرها مطالعات زیادی در خصوص ارتباط بین مصرف سویا و سلامت انسان صورت گرفته است (Adams *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2006)، به‌طوری‌که اخیرا مصرف فرآورده‌های دانه سویا به جهت مزایایی مانند کیفیت مطلوب پروتئین، رو به افزایش بوده و همچنین به جهت قیمت مناسب در مقایسه با دیگر منابع پروتئینی در صنعت دامپروری نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Liu, 2000).

پروتئین‌های دانه سویا بر اساس قابلیت انحلال به چهار دسته آلبومین، گلوبولین، پرولامین و گلوتلین تقسیم می‌شوند که از این بین پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین بیش‌ترین پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه سویا را تشکیل می‌دهند (Ciabotti *et al.*, 2016). بر اساس شاخص رسوب نیز پروتئین‌های دانه سویا به چهار بخش 15S، 11S، 7S و 2S تقسیم می‌شوند، که از این بین بخش 11S (Glycinin) و 7S (β-Conglycinin) شامل گلوبولین‌ها بوده و حدود ۷۰ درصد کل پروتئین‌های دانه سویا را شامل می‌شوند (Kitamura, 1995). پروتئین β-Conglycinin یک گلیکوپروتئین با سه زیر واحد ά ، α و β می‌باشد، درصورتی‌که پروتئین Glycinin هگزامر بوده و دارای زیرواحدهای اسیدی (A1-4) و بازی (B1-4) به همراه پیوندهای دای‌سولفید است. بخش 2S شامل پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۲۱-۸ کیلو دالتون بوده که عموما شامل پروتئین‌های بازدارنده پروتئازی می‌باشند (Novak-Hajos *et al.*, 2010). بخش 15S نیز شامل آیزوزایم‌های لیپوکسیژناز (Lox 1-3) با وزن مولکولی حدود ۹۵ کیلو دالتون می‌باشند (Mandal *et al.*, 2013).

با توجه به این‌که دانه سویا با میزان پروتئین بالا و مطلوب یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی در جیره غذایی محسوب می‌شود در نتیجه افزایش کیفیت پروتئین‌های سویا می‌تواند ارزش غذایی و کارایی مصرف آن را افزایش دهد. به‌طوری‌که امروزه افزایش کمیت و کیفیت پروتئین‌های دانه سویا یکی از مهم‌ترین اهداف در برنامه اصلاحی سویا محسوب می‌شود. در پروتئین‌های دانه سویا با وجود فاکتورهای تغذیه‌ای مناسب، پروتئین‌هایی وجود دارد که کیفیت و کارایی آن را در جیره غذایی محدود می‌کنند. از مهم‌ترین این عوامل می‌توان به آلرژن‌ها، بازدارنده‌های پروتئازی، لکتین‌ها، ساپونین، فیتوستروژن، گواتروژن و همچنین الیگوساکاریدهایی مانند رافینوز و استاکیوز اشاره نمود (Yasothai, 2016; Schmidt *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2014; Krishnan *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2004). مطالعات تغذیه‌ای در خصوص کارایی پروتئین‌های دانه سویا در جیره غذایی موش‌ها (Liener, 1996) و جوجه‌های گوشتی (Gu *et al.*, 2010) نشان داد که پروتئین لکتین و بازدارنده‌های پروتئازی مهم‌ترین عوامل ضدتغذیه‌ای در پروتئین‌های دانه سویا محسوب می‌شوند. همچنین ارزیابی جیره غذایی بر پایه پروتئین‌های دانه سویا در مقایسه با پروتئین کازئین نشان داد که بازدارنده‌های پروتئازی و لکتین‌ها به‌ترتیب موجب ۴۰ و ۱۵ درصد کاهش رشد خواهند شد (Gu *et al.*, 2010).

پروتئین‌های بازدارنده پروتئازی با غیر فعال‌کردن آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین باعث عدم هضم صحیح پروتئین‌ها و کاهش ارزش غذایی آن‌ها می‌شوند (Liener and Kakde 1980; Norton, 1991). از طرفی دیگر حضور مداوم این بازدارنده‌ها در جیره غذایی موجب بزرگ‌شدن و نهایتا غیر فعال‌شدن پانکراس خواهد شد (Liener, 1995). پروتئین لکتین نیز قادر است با کربوهیدرات‌های موجود در گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها پیوند برقرار کرده و با تغییر مورفولوژی سلول‌های اپیتلیوم روده‌ای، جذب صحیح مواد غذایی را کاهش داده و همچنین با غیر فعال

کردن آنزیم آمیلاز پانکراس قابلیت هضم نشاستهٔ را نیز کاهش دهد (Schulze *et al.*, 1995).

از آن‌جایی‌که اطلاعات کاملی از کیفیت پروتئین‌های دانه در ارقام زراعی داخلی وجود ندارد و همچنین با توجه به اهمیت کیفیت این منبع پروتئینی در کارایی جیره غذایی، در این تحقیق خصوصیات کیفی پروتئین‌های دانه مانند میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای، میزان فعالیت پروتئین‌های لکتین و بازدارنده‌های پروتئازی به‌همراه برخی از صفات زراعی مهم در ۱۵ ژنوتیپ مختلف سویا شامل نه واریته زراعی و شش لاین موتانت مورد ارزیابی قرار خواهند گرفت.

مواد و روش‌ها

جهت ارزیابی خصوصیات کمی و کیفی سویا ابتدا بذور ژنوتیپ‌های مختلف، شامل نه رقم زراعی (ارقام هیل، سحر، نکادر، کاسپین، کتول، تلار، ساری، تپور و آرین) از مرکز تحقیقات کشاورزی مازندران (بایع کلا) و شش لاین موتانت نسل M_{11} حاصل از رقم نکادر از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان در سال زراعی ۱۳۹۷ تهیه گردید. سپس بذور حاصل در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. هر کرت شامل سه ردیف به طول یک متر و فواصل نیم متر از هم بود. فواصل بین بوته در هر خط نیز ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. پس از رشد کامل گیاهان از خط میانی هر کرت ۱۰ بوته برداشت و مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات زراعی مورد مطالعه شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد غلاف‌ها، زمان رسیدن، وزن دانه و عملکرد دانه بود.

جهت استخراج پروتئین‌ها نیز ابتدا بذور هر کرت برداشت شده از مزرعه به‌طور جداگانه به کمک ازت مایع در هاون به‌خوبی پودر گردید. در این روش ابتدا ۱۰ میلی‌گرم پودر هر نمونه در ۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج هیدروکسید پتاسیم (KOH 0.2%) حل و پس از تهیه سوسپانسیون، آن را با دور ۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ نموده و از فاز بالایی آن جهت ارزیابی میزان پروتئین قابل حل، استفاده گردید. جهت استخراج پروتئین‌های ذخیره‌ای آلبومین و گلوبولین نیز ابتدا نمونه‌های مورد مطالعه به کمک آب مقطر (به نسبت V:W۱۰:۱) در دمای اتاق به‌مدت نیم ساعت به‌خوبی مخلوط و سپس سوسپانسون حاصل با دور ۱۴۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید و از فاز بالایی آن به‌عنوان پروتئین‌های محلول در آب استفاده شد. پس از دو بار شستشوی رسوب حاصل با آب مقطر، به آن ۵۰۰ میکرولیتر بافر کلراید سدیم ۰/۵ مولار اضافه و در دمای اتاق به‌مدت نیم ساعت به‌خوبی مخلوط گردیدند. سپس سوسپانسون حاصل با دور ۱۴۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شده و از فاز بالایی آن به‌عنوان پروتئین‌های محلول در NaCl استفاده شد. ارزیابی کمیت پروتئین‌های استخراج‌شده نیز توسط روش برادفورد صورت گرفت و از BSA (Bovine Serum Albumin) به‌عنوان استاندارد استفاده شده، سپس میزان پروتئین‌های استخراج‌شده بر اساس میلی‌گرم برای هر گرم نمونه محاسبه شد (Bradford, 1976).

میزان بازدارندگی پروتئازی نمونه‌های مورد مطالعه توسط فعالیت دو آنزیم پروتئازی تریپسین و کیموتریپسین صورت گرفت. در این روش ابتدا آنزیم‌های تریپسین (T1426) و کیموتریپسین (G4875) گاوی به‌همراه سوبسترات مربوطه به‌ترتیب BAPNA (Na-Benzoyl-DL-Arginine-p-Nitroanilide) و GPNA (N-Glutaryl-L-phenylalanine p-nitroanilide) از شرکت سیگما (Sigma Aldrich Co) خریداری شد.

جهت ارزیابی میزان بازدارندگی پروتئازی ابتدا آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین در محلول هیدروکلریک اسید (HCl) ۱ میلی‌مولار با دمای ۴ درجه سلسیوس به‌میزان ۰/۰۰۲ درصد حل شدند، برای تهیه محلول سوبسترات نیز ابتدا سوبسترات‌های مربوطه در ۲۰۰ میکرولیتر محلول دی‌متیل سولفواکسید (DMSO) حل شده و نهایت در بافر Tris-HCl pH:8 ۱۰۰ میلی‌مولار به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جهت تعیین میزان بازدارندگی پروتئازی، ابتدا محلول بلانک (بدون آنزیم)، محلول استاندارد (بدون پروتئین) و نمونه‌های مورد ارزیابی به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند و در نهایت جهت توقف فعالیت آنزیم‌ها به آن‌ها اسید استیک ۱۰ درصد اضافه شد. سپس میزان بازدارندگی پروتئازهای تریپسین TIA

(Trypsin Inhibitor Activity) و کیموتریپسین CIA (Chymotrypsin Inhibitor Activity) در دستگاه اسپکتوفتومتر (Biowave II) با طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت گردیدند (Livingstone *et al.*, 2007). میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئازی توسط دستورالعمل شرکت سیگما (Sigma Aldrich Co) بر اساس میلی‌گرم برای هر گرم نمونه محاسبه شد. در نهایت میزان کل فعالیت بازدارندگی پروتئازی PIA (Protease Inhibitors Activity) از مجموع دو فعالیت بازدارندگی TIA و CIA محاسبه شد.

ارزیابی میزان فعالیت پروتئین لکتین نیز توسط آزمون HAU (Haemagglutination Activity Unite) انجام شد. در این روش ابتدا پروتئین‌ها به کمک بافر Tris-Hcl pH:8.0 ۱۰۰ میلی‌مولار به‌همراه کلسیم کلراید ($CaCl_2$) ۲۰ میلی‌مولار استخراج گردیدند و سپس میزان HAU پس از تعیین سریال رقت نمونه‌های مورد مطالعه در مجاورت سلول‌های خونی انسانی تیپ AB^+ تعیین گردیدند (Sano and Ogawa, 2014). هر واحد از فعالیت HAU بر اساس حداقل رقت بازدارندگی و بر اساس میلی‌گرم برای هر گرم پروتئین محاسبه شد (Lin *et al.*, 2008).

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS V.16 و برنامه EXCL صورت گرفت. هر یک از نمونه‌های آزمایشی توسط طرح کامل تصادفی و با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. مقایسات میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. ضریب همبستگی بین صفات مورد ارزیابی نیز با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون انجام شد.

نتایج

صفات مورفولوژیک

نتایج تجزیه واریانس برای صفات موفولوژیک مشخص نمود که بین ژنوتیپ‌های مختلف برای صفات مورد ارزیابی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال آماری ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). مقایسات میانگین برای صفات مورد ارزیابی در جدول ۲ نشان داد که رقم زراعی کتول با ارتفاع ۱۷۲/۵۰ سانتی‌متر بیش‌ترین ارتفاع بوته را به خود اختصاص داد، درحالی‌که لاین موتانت 032-240-224 با ارتفاع ۴۶/۳۳ سانتی‌متر کم‌ترین ارتفاع را دارا بود. همچنین بیش‌ترین تعداد شاخه فرعی در لاین موتانت 032-240-D-P1 مشاهده شد (۳/۶۶ عدد)، درحالی‌که ارقام زراعی نکادر و کاسپین و لاین موتانت 032-240-38 تک‌شاخه بودند. برای تعداد غلاف‌ها نیز به‌ترتیب رقم زراعی تپور با بیش‌ترین تعداد غلاف سه دانه (۷۱/۰۰ عدد) و بیش‌ترین تعداد غلاف پوچ (۱۲/۰۰ عدد)، لاین موتانت 032-240-D-P1 با بیش‌ترین تعداد غلاف دو دانه (۷۰/۴۵ عدد) و بیش‌ترین تعداد غلاف پوچ (۱۱/۱۱ عدد) و لاین موتانت 032-240-D-P4 نیز با بیش‌ترین تعداد غلاف تک‌دانه (۲۴/۶۶ عدد) توانسته بودند بیش‌ترین تعداد غلاف‌ها را به خود اختصاص دهند (به‌ترتیب ۱۲۸/۰۰، ۱۲۲/۸۲ و ۱۰۳/۵۵ عدد).

برای وزن دانه نیز ارقام زراعی آرین، کتول، نکادر و لاین‌های موتانت 032-240-222، 032-240-38 و 032-240-D-P4 در دسته اول (به‌ترتیب ۹/۶۱، ۹/۴۸، ۸/۷۶، ۹/۰۲، ۸/۷۳ و ۸/۹۸ گرم) و ارقام زراعی هیل و تپور و همچنین لاین‌های موتانت 032-240-D-P1 و 032-240-224 در دسته آخر قرار گرفتند (به‌ترتیب ۶/۹۸، ۶/۵۱، ۶/۸۲ و ۶/۲۵ گرم). در نهایت لاین‌های موتانت 032-240-D-P4 با بیش‌ترین تعداد غلاف (۱۰۳/۵۵ عدد) و لاین موتانت 032-240-D-P1 نیز با بیش‌ترین تعداد غلاف و همچنین بیش‌ترین تعداد شاخه فرعی (به‌ترتیب ۱۲۲/۸۲ و ۳/۶۶ عدد) توانسته بودند بیش‌ترین عملکرد دانه را به خود اختصاص دهند (به‌ترتیب ۳۲/۲۰ و ۲۴/۷۷ گرم در هر بوته)، این در حالی است که ارقام زراعی هیل، سحر، کاسپین و کتول و همچنین لاین‌های موتانت 032-240-38، 032-240-222 و 032-240-224 از نظر عملکرد دانه در دسته آخر قرار داشتند. ارزیابی‌های طول دوره رسیدگی نیز نشان داد که رقم زراعی هیل با طول دوره ۱۲۳ روز زودرس‌ترین رقم و ارقام زراعی سحر و نکادر با طول دوره ۱۳۸ روز دیررس‌ترین ارقام بودند.

کیفیت پروتئین‌های دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای کیفیت پروتئین‌های دانه نشان داد که برای تمامی صفات مورد ارزیابی اختلاف آماری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس برخی از صفات مورفولوژیک در ژنوتیپ‌های مختلف سویا

Table 1. Analysis of variance of some morphological traits in different soybean genotypes

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه Number of branches	تعداد غلاف Number of pods						وزن ۵۰ دانه 50 Seed weight	عملکرد بوته Yield	روز تا رسیدگی Day to maturity
				تک دانه One seed	دو دانه Two seeds	سه دانه Three seeds	چهار دانه Four seeds	پوچ Empty	کل Total pods			
بلوک Repeat	2	7.12 ns	0.01 ns	5.32 ns	190.52 *	100.28 *	0.14 ns	4.37 *	698.56 ns	0.05 ns	57.13 ns	-----
ژنوتیپ Genotypes	14	1600.98 **	1.43 **	130.20 **	739.04 **	778.04 **	4.91 **	43.31 **	2836.34 **	3.31 **	92.77 **	322.34
خطا Error	28	10.63	0.12	9.28	58.72	31.02	0.07	4.95	257.25	0.32	19.60	-----
ضریب تغییرات %CV	-----	3.50	19.90	36.26	26.76	24.57	61.52	45.44	24.81	6.82	24.43	-----

ns، * ، ** به‌ترتیب بدون اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار در سطح آماری ۵ و ۱ درصد

ns,* and **, non-significant, significant at 5% and 1% levels, respectively

جدول ۲- مقایسه‌های میانگین برخی از صفات مورفولوژیک در ژنوتیپ‌های مختلف سویا

Table 2. Main comparisons some morphological traits in different soybean genotypes

	ژنوتیپ Genotypes	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	تعداد شاخه (عدد) Number of branches	تعداد غلاف (عدد) Number of pods						وزن ۵۰ دانه (گرم) 50 Seed weight (g)	عملکرد دانه (گرم/بوته) Yield per plant (g)	زمان رسیدن (روز) Day to maturity (Day)
				تک‌دانه One seed	دو دانه Two seeds	سه دانه Three seeds	چهار دانه Four seeds	پوچ Empty	کل Total pods			
ارقام زراعی Cultivars	هیل Hill	90.66 c	1.50 cde	3.80 c	12.65 f	13.65 efg	0.00 c	3.50 bc	33.60 e	6.98 ghi	12.15 de	123
	سحر Sahar	97.50 cd	1.50 cde	14.90 b	21.05 cdef	20.00 cde	0.00 c	1.33 bc	57.29 cde	7.48 efgh	16.66 bcde	138
	نکادر Nekador	100.33 bc	1.00 e	4.37 c	20.51 cdef	25.87 cd	1.00 b	5.03 b	56.79 cde	8.76 abcd	18.50 bcd	138
	کاسپین Kaspian	103.66 b	1.00 e	5.30 c	23.00 cdef	13.00 efg	0.00 c	3.25 bc	44.55 cde	8.10 cdef	12.65 de	136
	کتول Katol	172.50 a	2.00 bc	3.50 c	20.00 cdef	19.00 cdef	0.00 c	1.00 c	43.50 cde	9.48 ab	16.06 bcde	136
	ساری Sari	74.00 f	2.00 bc	12.00 b	32.00 cd	12.00 efg	0.00 c	2.83 bc	58.83 cde	8.47 bcde	16.00 bcde	133
	تلار Telar	92.50 de	1.75 cd	2.50 c	17.25 def	42.00 b	4.95 a	2.50 bc	69.20 cd	7.39 fgh	21.00 bcd	128
	تپور Tapor	91.37 e	1.50 cde	11.25 b	33.75 c	71.00 a	0.00 c	12.00 a	128.00 a	6.51 hi	22.50 bc	125
	آرین Arian	78.66 f	2.50 b	16.66 b	34.00 c	14.66 defg	0.00 c	11.33 a	76.66 bc	9.61 a	18.66 bcd	129
لاین‌های موتانت Mutant lines	032-240-D-P1	74.66 f	3.66 a	12.71 b	70.45 a	28.54 c	0.00 c	11.11 a	122.82 a	6.82 hi	24.77 ab	133
	032-240-D-P4	100.00 bc	2.00 bc	24.66 a	52.16 b	25.66 cd	0.00 c	1.06 bc	103.55 ab	8.98 abc	32.20 a	133
	032-240-D-P5	97.83 cd	1.50 cde	5.94 c	35.68 c	17.25 cdefg	0.00 c	0.50 c	59.38 cde	7.94 defg	17.25 bcde	133
	032-240-222	91.66 e	2.00 bc	3.75 c	29.15 cde	7.05 g	0.00 c	3.75 bc	43.70 cde	9.02 abc	15.30 cde	132
	032-240-224	46.33 g	1.25 de	2.00 c	12.50 f	8.00 fg	0.00 c	5.00 b	27.50 e	6.25 i	9.16 e	129
	032-240-38	96.33 cde	1.00 e	3.00 c	14.66 ef	19.00 cdef	0.50 c	3.66 bc	40.83 cde	8.73 abcd	17.33 bcde	132

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک در هر ستون می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

The mean of the letters in each column is not significant in terms of the Duncan multiplicity test at 5% probability level.

جدول ۳- تجزیه واریانس خصوصیات کیفی پروتئین‌های دانه در ژنوتیپ‌های مختلف سویا

Table 3. Analysis of variance of quality properties of seed proteins in different soybean genotypes

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میزان پروتئین Protein content	پروتئین‌های محلول Soluble proteins			بازدارنده‌های پروتئازی Protease inhibitors			فعالیت هماگلوتنین Haemagglutination activity (HAU)
			آلبومین Albumin	گلوبولین Globulin	کل Total	بازدارنده تریپسین Trypsin inhibitor (TIA)	بازدارنده کیموتریپسین Chymotrypsin inhibitor (CIA)	کل بازدارندگی Total inhibitory (PIA)	
ژنوتیپ Genotypes	14	433089.02 **	200769.26 **	577.97 **	222599.27 **	1414.55 **	50.69.26 **	11723.30 **	80.59 **
خطا Error	30	417.07	353.38	0.21	353.34	12.57	0.11	13.58	0.01
ضریب تغییرات CV(%)	-----	5.39	7.27	3.32	6.90	16.66	0.82	5.97	2.06

** significant at 1% probability level

** معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد

جدول ۴- مقایسه‌های میانگین خصوصیات کیفی پروتئین‌های دانه در ژنوتیپ‌های مختلف سویا

Table 4. Main comparison of seed proteins in different soybean genotypes

	ژنوتیپ Genotypes	میزان پروتئین Protein content (میلی-گرم/گرم) (mg/g)	پروتئین‌های محلول Soluble proteins (میلی‌گرم/گرم) (mg/g)			بازدارنده‌های پروتئازی Protease inhibitors (میلی‌گرم/گرم) (mg/g)			فعالیت هماگلوتنین Haemagglutination activity (HAU) (میلی‌گرم/گرم) (mg/g)
			آلبومین Albumin	گلوبولین Globulin	کل Total	بازدارنده تریپسین Trypsin inhibitor (TIA)	بازدارنده کیموتریپسین Chymotrypsin inhibitor (CIA)	کل بازدارندگی Total inhibitory (PIA)	
ارقام زراعی Cultivars	هیل Hill	361.50 cdef	274.75 ab	11.30 h	286.05 ab	22.99 bcde	45.01 c	68.00 b	6.13 d
	سحر Sahar	362.25 cdef	248.75 bc	13.90 d	262.65 bc	24.41 abcd	38.31 g	62.73 bcd	6.41 c
	نکادر Nekador	453.75 a	249.75 bc	13.70 de	263.45 bc	24.79 abc	43.41 d	68.21 b	6.25 d
	کاسپین Kaspian	414.75 b	292.75 a	13.35 def	306.10 a	22.79 bcde	22.49 j	45.28 f	7.10 a
	کتول Katol	352.91 ef	225.25 c	18.75 a	244.00 bc	16.54 ef	27.3 I	43.90 f	6.70 b
	ساری Sari	348.00 ef	252.75 bc	13.45 de	266.20 bc	13.74 f	42.09 e	55.83 e	6.56 c
	تلار Telar	393.75 bcd	260.50 abc	13.65 de	274.15 abc	22.17 bcde	38.43 g	60.50 cde	6.20 cd
	تپور Tapor	419.08 b	259.75 abc	12.25 g	272.00 abc	21.77 bcde	42.32 e	63.92 bcd	6.38 cd
	آرین Arian	360.00 def	253.50 bc	16.40 b	269.90 bc	27.21 ab	53.15 a	80.37 a	3.11 fg
لاین‌های موتانت Mutant lines	032-240-D-P1	340.50 f	255.00 bc	13.60 de	269.10 bc	20.17 cdef	42.32 e	62.50 bcde	3.21 f
	032-240-D-P4	400.16 bc	263.00 ab	14.85 c	277.85 abc	14.50 f	31.49 h	46.00 f	3.59 e
	032-240-D-P5	383.25 bcde	267.25 ab	13.45 de	280.70 abc	17.75 def	40.37 f	58.13 de	3.23 f
	032-240-222	340.50 f	253.00 bc	12.55 fg	265.55 bc	29.64 a	46.22 b	75.86 a	1.50 h
	032-240-224	374.75 cdef	256.00 bc	12.50 g	268.50 bc	19.46 cdef	46.45 b	65.92 bc	2.92 g
	032-240-38	374.66 cdef	262.25 ab	12.85 efg	275.10 abc	21.31 bcde	46.34 b	67.65 b	2.97 g

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک در هر ستون می‌باشند، مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

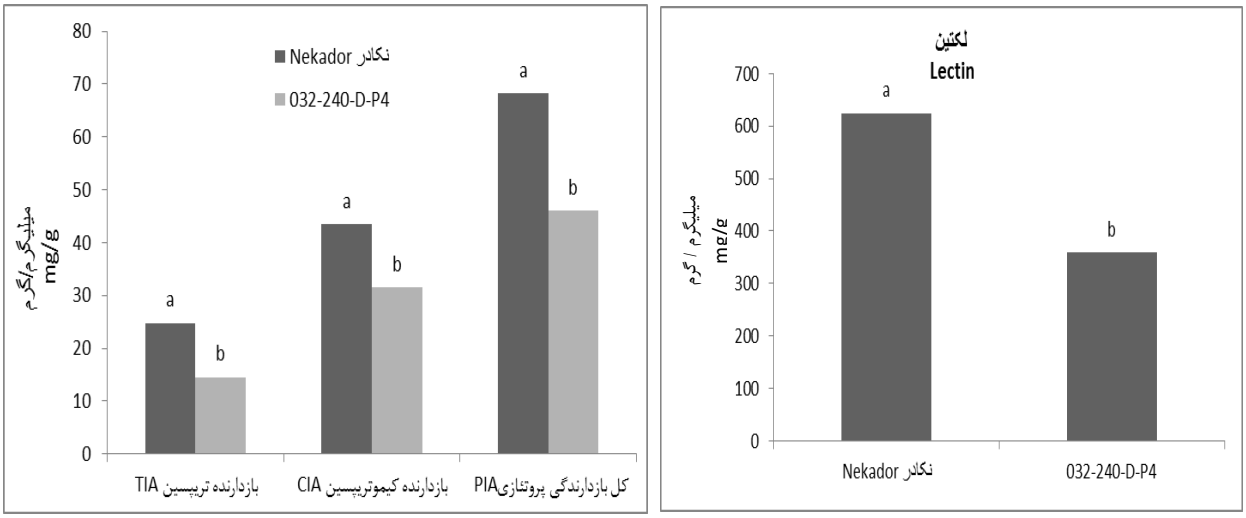
The mean of the letters in each column is not significant in terms of the Duncan multiplicity test at 5% probability level.

نتایج مقایسات میانگین نیز در جدول ۴ مشخص نمود که بیش‌ترین میزان پروتئین در رقم نکادر وجود دارد (۴۵۳/۷۵ میلی‌گرم/گرم). برای پروتئین‌های آلبومین نیز ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به دو دسته تقسیم شدند، به‌طوری‌که ارقام زراعی کاسپین، هیل، تلار و تپور به‌همراه لاین‌های موتانت 032-240-D-P5، 032-240-D-P4 و 032-240-38 در دسته اول قرار گرفتند. این درحالی است که برای پروتئین گلوبولین ارقام کتول، آرین و لاین موتانت 032-240-D-P4 به‌ترتیب در دسته‌های اول تا سوم قرار داشتند (به‌ترتیب ۱۸/۷۵، ۱۶/۴۰ و ۱۴/۸۵ میلی‌گرم/گرم) و رقم هیل در دسته آخر قرار گرفت (۱۱/۳۰ میلی‌گرم/گرم).

ارزیابی میزان بازدارنده‌های پروتئازی نیز نشان داد که ارقام آرین، نکادر و سحر به‌همراه لاین موتانت 032-240-222 بیش‌ترین میزان TIA را دارا می‌باشد (به‌ترتیب ۲۷/۲۱، ۲۴/۷۹، ۲۴/۴۱ و ۲۹/۶۴ میلی‌گرم/ گرم نمونه)، درحالی‌که کم‌ترین مقدار آن در ارقام ساری و کتول و لاین‌های موتانت 032-240-D-p5، 032-240-D-p4 و 032-240-224 مشاهده شد (به‌ترتیب ۱۳/۷۴، ۱۶/۵۴، ۱۷/۷۵، ۱۴/۵۰ و ۱۹/۴۶ میلی‌گرم/گرم). برای بازدارنده‌های کیموتریپسین (CIA) نیز بیش‌ترین مقدار آن در رقم آرین مشاهده شد (۵۳/۱۵ میلی‌گرم/گرم)، درحالی‌که کم‌ترین آن در رقم کاسپین به‌دست آمد (۲۲/۴۹ میلی‌گرم/گرم). در نهایت رقم زراعی آرین و لاین موتانت 032-240-222 بیش‌ترین میزان بازدارندگی پروتئازی تریپسین و کیموتریپسین (PIA) را نشان دادند (به‌ترتیب ۴۰/۱۸ و ۳۷/۹۳ میلی‌گرم/گرم) درحالی‌که کم‌ترین آن در ارقام کتول و کاسپین و همچنین لاین موتانت 032-240-D-P4 مشاهده شد (به‌ترتیب ۴۳/۹۰، ۴۵/۲۸ و ۴۶/۰۰ میلی‌گرم/گرم).

ارزیابی HAU برای پروتئین لکتین نیز نشان داد که رقم زراعی کاسپین و لاین موتانت 032-240-222 به‌ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین میزان HAU می‌باشند (به‌ترتیب ۷/۱۰ و ۱/۵۰ میلی‌گرم/گرم).

مقایسه میزان عوامل ضدتغذیه‌ای HAU و بازدارنده‌های پروتئازی TIA، CIA و PIA در لاین موتانت 032-240-D-P4 با رقم نکادر (والد مادری) در شکل ۱ مشخص نمود که لاین موتانت 032-240-D-P4 برای عوامل ضدتغذیه‌ای کاهش حدود ۴۰ درصد را در مقایسه با والد مادری خود دارا می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه بازدارنده‌های پروتئازی و پروتئین لکتین (HAU) در لاین موتانت 032-240-D-P4 و رقم نکادر (والد مادری)

Figure 1. Comparison of protease inhibitors and lectin (HAU) proteins in 032-240-D-P4 mutant line and Nekador cultivar (Parent)

تجزیه همبستگی

نتایج ضرایب همبستگی برای خصوصیات کمی و کیفی سویا در جدول ۵ نشان داده شده است. این نتایج برای خصوصیات مورفولوژیک نشان داد که بین ارتفاع بوته با وزن دانه همبستگی معنی‌داری وجود دارد (۰/۵۳ درصد). همچنین بین تعداد شاخه با تعداد غلاف‌های دو دانه (۰/۷۹

درصد) و تعداد کل غلاف‌ها نیز ارتباط معنی‌داری به‌دست آمد (۰/۵۷ درصد). بین عملکرد دانه با تعداد غلاف‌های تک-دانه، دو دانه، سه دانه و کل غلاف‌ها نیز ارتباط معنی‌داری به‌دست آمد (به‌ترتیب ۰/۹۹، ۰/۷۱، ۰/۵۲ و ۰/۸۲درصد). در خصوص ارتباط بین صفات مورفولوژیک با خصوصیات کیفی پروتئین‌های دانه نیز بین ارتفاع بوته با بازدارنده‌های پروتئازی و بین تعداد شاخه و میزان پروتئین ارتباط معکوسی به‌دست آمد (به‌ترتیب ۰/۵۲- و ۰/۵۹- درصد)، درحالی‌که بین وزن دانه با میزان پروتئین‌های گلوبولین این رابطه مثبت بود (۰/۶۴ درصد). در خصوص خصوصیات کیفی پروتئین‌های دانه نیز بین پروتئین‌های ذخیره‌ای آلبومین و گلوبولین و همچنین بین بازدارنده‌های کیموتریپسین و پروتئین لکتین ارتباط معکوسی مشاهده شد (به‌ترتیب ۰/۶۱- و ۰/۵۲- درصد).

بحث

در بین دانه‌های روغنی، گیاه سویا مهم‌ترین منبع تولید روغن و پروتئین در جهان محسوب می‌شود (Hymowitz ana Kaizuma, 2008). سطح زیر کشت این گیاه در ایران حدود یکصد هزار هکتار گزارش شده است، که عمدتا در استان‌های گلستان، مازندران و اردبیل کشت می‌شود (آمارنامه جهاد کشاورزی ۹۳-۱۳۹۲). از خصوصیات مورفولوژیک مهم این گیاه حساسیت بالا به طول روز می-باشد، به‌طوری‌که هر ژنوتیپ در طول روز معینی وارد مرحله نمو زایشی خود خواهد شد. به‌همین دلیل خصوصیاتی همچون ارتفاع بوته و زمان رسیدن در رشد مناسب گیاه سویا جهت حصول عملکرد اقتصادی مناسب بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Malik *et al.*, 2011). بنابراین شناسایی و معرفی ارقام پرمحصول با تیپ رشدی مناسب می‌تواند در افزایش تولید سهم به‌سزایی داشته و همچنین در رسیدن به استقلال اقتصادی مؤثر واقع گردد. از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه رقم کتول به‌دلیل ارتفاع زیاد بوته موجب ورس در مزرعه شده بود. این درحالی است که لاین موتانت -032 240-224 با کم‌ترین ارتفاع بوته کم‌ترین عملکرد دانه را به خود اختصاص داده بود. از طرفی دیگر لاین موتانت -032 240-D-P1 با کاهش ۴۰ درصدی ارتفاع بوته نسبت به والد مادری (نکادر) و همچنین بیش‌ترین تعداد شاخه توانسته بود عملکرد بالایی را در مقایسه با دیگر ارقام زراعی داشته باشد. همچنین لاین‌های موتانت 032-240-D-P4 و -032-240 D-P1 با پنج روز طول دوره رسیدگی کم‌تر در مقایسه با والد مادری خود (نکادر) بیش‌ترین پتانسیل عملکرد دانه را نیز دارا بودند (جدول ۲). برخی محققین عنوان داشتند که افزایش ارتفاع بوته می‌تواند تاثیر منفی بر عملکرد داشته باشد، چون هرچه مرحله رویشی گیاه طولانی‌تر باشد و گیاه وارد فاز زایشی و تشکیل بذر نشود، عملکرد آن کاهش می‌یابد (Iqbal *et al.*, 2003). از طرفی دیگر Amiri *et al.*, (2013) عنوان داشتند که تأخیر در کاشت با ایجاد تأخیر در وقوع به موقع مراحل فنولوژیک سویا باعث کاهش عملکرد خواهد شد، به‌طوری‌که با تعدیل طول دوره مراحل فنولوژیک از طریق انتخاب تاریخ کاشت مناسب می‌توان به گیاه اجازه داد تا با استفاده مناسب از شرایط محیطی به‌طور بهتری رشد کرده و نهایتا منجر به حصول عملکرد مناسب گردد. بنابراین به نظر می‌رسد لاین موتانت 032-240-D-P1 با کاهش ارتفاع حدود ۴۰-۳۰ درصدی در مقایسه با دیگر ارقام زراعی می‌تواند با تاریخ کشت زودتر و همچنین با قابلیت کودپذیری بیش‌تر عملکرد دانه مطلوب‌تری را در واحد سطح تولید نماید. با توجه به این‌که دانه سویا با میزان پروتئین بالا و مطلوب یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی در جیره غذایی انسان (و یا به‌طور غیر مستقیم در صنعت دامپروری) محسوب می‌شود، در نتیجه افزایش کیفیت پروتئین‌های سویا می‌تواند ارزش غذایی و کارایی مصرف آن را افزایش دهد. امروزه افزایش کمیت و کیفیت پروتئین‌های دانه سویا یکی از مهم‌ترین اهداف در برنامه اصلاحی سویا محسوب می‌شود. اگرچه پروتئین دانه سویا در مقایسه با دیگر منابع پروتئین گیاهی دارای ترکیبات مناسبی از اسیدهای آمینه می‌باشد (Lajalo and Genevese, 2002)، اما در مقایسه با پروتئین‌های حیوانی در میزان اسیدهای آمینه گوگرددار ضروری همچون متیونین و سیستئین ضعیف می‌باشند (Zarkadas *et al.*, 1999). با توجه به این‌که پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین بیش‌ترین پروتئین‌های قابل حل را در پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه سویا تشکیل می‌دهند لذا نقش

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین ۱۸ صفت مورد مطالعه در بین ۱۵ ژنوتیپ‌های مختلف سویا

Table 5. Correlation coefficient of characters between 18 traits studied among 15 different soybean genotypes

صفات Traits	تعداد شاخه Number of branch	غلاف تک دانه Single seed pod	غلاف دو دانه Two seed pod	غلاف سه دانه Three seed pod	غلاف چهار دانه Four seeds pod	غلاف پوچ Empty pod	کل غلاف Total pod	وزن دانه Seed weight	عملکرد دانه Seed yield	میزان پروتئین Protein content	آلبومین Albumin	گلوبولین Globulin	آلبومین+گلوبولین Albu+Globu	بازدارنده تریپسین Trypsin inhibitor	بازدارنده کیموتریپسین Chymotrypsin inhibitor	کل بازدارندگی Total inhibitory	فعالیت هماگلوتنین Haemagglutination
ارتفاع بوته Plant height	-0.09	-0.08	-0.05	0.20	-0.01	-0.39	-0.03	0.52*	0.20	0.06	-0.22	0.65**	-0.16	-0.08	-0.61*	-0.52*	0.40
تعداد شاخه Number of branch	1.00	0.45	0.79**	0.37	-0.07	0.59*	0.57*	0.03	0.46	-0.59*	-0.10	-0.09	-0.11	-0.14	0.15	0.08	-0.31
غلاف تک دانه Single seed pod		1.00	0.93**	0.15	-0.20	0.37	0.96**	0.11	0.69**	-0.10	0.14	0.11	0.16	-0.38	-0.19	-0.31	-0.26
غلاف دو دانه Two seed pod			1.00	0.19	0.21	0.49	0.79**	0.14	0.71**	-0.20	0.09	0.14	0.12	-0.36	-0.19	-0.29	-0.41
غلاف سه دانه Three seed pod				1.00	0.30	0.15	0.72**	0.11	0.52*	0.09	0.04	0.31	0.11	-0.38	-0.35	-0.42	-0.08
غلاف چهار دانه Four seed pod					1.00	-0.16	-0.09	-0.12	0.04	0.20	-0.10	0.06	-0.08	0.08	0.02	0.01	0.21
غلاف پوچ Empty pod						1.00	0.46	-0.11	0.24	-0.39	-0.13	-0.05	-0.14	0.26	0.36	0.37	-0.50
کل غلاف Total pod							1.00	0.11	0.82**	-0.13	0.08	0.17	0.12	-0.36	-0.20	-0.30	-0.33
وزن دانه Seed weight								1.00	0.42	-0.07	-0.15	0.64**	-0.06	0.05	-0.11	-0.06	-0.13
عملکرد دانه Seed yield									1.00	0.14	0.08	0.45	0.17	-0.23	-0.15	-0.21	-0.18

* and ** significant at 1% and 5% probability level respectively

* و** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال آماری ۵ و ۱ درصد

ادامه جدول ۵

Continue table 5

صفات Traits	تعداد شاخه Number of branch	غلاف تک دانه Single seed pod	غلاف دو دانه Two seed pod	غلاف سه دانه Three seed pod	غلاف چهار دانه Four seeds pod	غلاف پوچ Empty pod	کل غلاف Total pod	وزن دانه Seed weight	عملکرد دانه Seed yield	میزان پروتئین Protein content	آلبومین Albumin	گلوبولین Globulin	آلبومین+گلوبولین Albu+Globu	بازدارنده تریپسین Trypsin inhibitor	بازدارنده کیموتریپسین Chymotrypsin inhibitor	کل بازدارندگی Total inhibitory	فعالیت هماگلوتنین Haemagglutination
میزان پروتئین Protein content										1.00	0.01	0.40	0.09	0.04	-0.25	-0.17	0.36
آلبومین Albumin											1.00	-0.61*	0.99**	0.01	-0.01	-0.01	0.18
گلوبولین Glubolin												1.00	-0.52*	-0.04	-0.16	-0.13	0.22
آلبومین+گلوبولین Albu+Globu													1.00	-0.01	-0.05	-0.04	0.22
بازدارنده تریپسین Trypsin inhibitor														1.00	0.41	0.73**	-0.18
بازدارنده کیموتریپسین Chymotrypsin inhibitor (CIA)															1.00	0.92**	-0.52*
کل بازدارندگی Total inhibitory (PIA)																1.00	-0.47
فعالیت هملگلوتنین Haemagglutination																	1.00

* and ** significant at 1% and 5% probability level respectively

* و** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال آماری ۵ و ۱ درصد

مهم‌تری در تعیین کیفیت پروتئین‌های دانه سویا خواهند داشت (Ciabotti *et al.*, 2016). گزارشات متفاوتی از ارتباط بین اسیدهای آمینه ضروری با میزان پروتئین‌های دانه گزارش شده است. برخی از گزارشات حاکی از آن است که ژنوتیپ‌هایی از سویا با میزان پروتئین بالاتر، اسیدهای آمینه ضروری بیش‌تری را نیز دارا خواهند بود (Krishnan *et al.*, 2007). این درحالی است که برخی دیگر بین پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری ارتباط معنی‌داری را به‌دست نیاوردند (Zarkadas *et al.*, 2007). رقم نکادر با بیش‌ترین میزان پروتئین و همچنین رقم کتول با بیش‌ترین میزان پروتئین گلوبولین و ارقام کاسپین، هیل، تلار و تپور به همراه لاین موتانت 032-240-D-P5 با بیش‌ترین میزان پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین می‌توانند در این خصوص از نظر ترکیبات اسیدهای آمینه بیش‌تر مورد مطالعه قرار گیرند.

از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده در کیفیت پروتئین‌های دانه سویا وجود عوامل ضدتغذیه‌ای می‌باشد. ارزیابی کارایی پروتئین دانه سویا در مقایسه با پروتئین کازین در جیره غذایی موش‌ها نشان داد که ۵۰ درصد بازدارندگی رشد مربوط به پروتئین لکتین، ۴۰ درصد مربوط به بازدارنده‌های پروتئازی و ۱۰ درصد مربوط به دیگر عوامل ضد تغذیه‌ای می‌باشد (Liener, 1996). بنابراین پروتئین لکتین و بازدارنده‌های پروتئازی مهم‌ترین عوامل ضدتغذیه‌ای در پروتئین‌های دانه سویا محسوب می‌شوند. بازدارنده پروتئازی با غیر فعال‌کردن آنزیم‌های پروتئازی باعث عدم هضم صحیح پروتئین‌ها و کاهش ارزش غذایی آن‌ها می‌شوند (Liener and Kakde 1980; Norton, 1991). پروتئین لکتین نیز قادر است با کربوهیدرات‌های موجود در گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها پیوند برقرار کرده و با تغییر مورفولوژی سلول‌های اپیتلیوم روده‌ای جذب صحیح مواد غذایی را کاهش دهد (Schulze *et al.*, 1995). اگرچه تیمارهای حرارتی قادر خواهند بود میزان فعالیت عوامل ضدتغذیه‌ای را کاهش دهند (Fasina *et al.*, 2003; Armour *et al.*, 1998). اما این تیمارها علاوه بر هزینه بالا نه تنها این عوامل را به‌طور کامل غیر فعال نمی‌کند، بلکه قابلیت انحلال پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه را نیز کاهش خواهند داد (Friedman and Brandon, 2001)، از طرفی دیگر پروتئین لکتین در برابر تیمارهای حرارتی خشک مقاومت بالایی را نشان می‌دهد (De Muelenaere, 1964; Lin *et al.*, 2008). مطالعات زیادی نشان دادند که میزان این دو پروتئین در واریته‌های مختلف سویا متفاوت می‌باشند (Gu *et al.*, 2010; Becker-Ritt *et al.*, 2004; Pesic *et al.*, 2007). بنابراین شناسایی واریته‌هایی از سویا با کاهش این فاکتورهای ضدتغذیه‌ای می‌تواند کارایی آن‌ها را در جیره غذایی افزایش دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که لاین‌های موتانت به‌همراه رقم آرین کاهش معنی‌داری را برای پروتئین لکتین در مقایسه با دیگر ارقام زراعی دارا بودند، که می‌توانند به‌عنوان لاین‌های امیدبخش جهت اصلاح واریته‌های جدید سویا با لکتین پائین‌تر مورد استفاده قرار گیرند (جدول ۲). برای بازدارنده‌های پروتئازی نیز لاین موتانت 032-240-D-P4 به همراه ارقام کتول و کاسپین کمترین میزان بازدارندگی پروتئازی (PIA) را نشان دادند (جدول ۲).

یکی از شاخص‌های اندازه‌گیری درجه و میزان ارتباط بین صفات، تعیین ضریب همبستگی می‌باشد. نتایج رگرسیونی برای صفات زراعی نشان داد که بین تعداد شاخه فرعی و عملکرد دانه با تعداد کل غلاف‌ها و همچنین بین ارتفاع بوته با وزن دانه رابطه مستقیمی وجود دارد. در این راستا Ghanbari *et al.*, (2018) با ارزیابی ۱۸ ژنوتیپ مختلف سویا ارتباط مستقیمی بین صفات زراعی به‌دست آوردند. در این مطالعه بین عملکرد و میزان پروتئین دانه با فاکتورهای ضدتغذیه‌ای HAU، TIA، CIA و PIA ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. بسیاری از مطالعات نیز بین صفات مورفولوژیک با پروفایل پروتئین‌های دانه (Zilic *et al.*, 1998; Livingstone *et al.*, 2007) و همچنین بین میزان پروتئین با زیرواحدهای پروتئینی دانه (Carrao-Panizzi *et al.*, 2008; Fehr *et al.*, 2003; Taski-Ajdukovic *et al.*, 2010) ارتباط معنی‌داری را به‌دست نیاوردند. اگرچه بسیاری از محققین ارتباط منفی بین عملکرد و میزان پروتئین دانه گزارش کرده‌اند (krishnan *et al.*, 2007, Taski-Ajdukovic *et al.*, 2010)، با این حال برخی از محققین توانسته بودند به‌دلیل وراثت‌پذیری بالای پروتئین

های ذخیره‌ای دانه، واریته‌هایی را با عملکرد دانه مطلوب و میزان پروتئین بالا اصلاح نمایند (Cober and Voldeng, 2000). لذا با توجه به نتایج این تحقیق و دیگر گزارشات به نظر می‌رسد که می‌توان واریته‌های جدیدی از سویا را در راستای عملکرد دانه بالا و کیفیت پروتئین‌های مطلوب اطلاح نمود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که لاین‌های موتانت با کاهش میزان فعالیت فاکتورهای ضدتغذیه‌ای همچون بازدارنده‌های پروتئازی و پروتئین لکتین می‌توانند به‌عنوان لاین‌های امیدبخش جهت اصلاح واریته‌های جدیدی از سویا با کیفیت پروتئین دانه بالاتر مورد استفاده قرار گیرند. به‌طور کلی نتایج ارزیابی صفات زراعی و کیفیت پروتئین‌های دانه در بین ارقام رایج زراعی و لاین‌های موتانت نشان داد که لاین موتانت 032-240-D-P4 با صفات زراعی مطلوب و بیش-ترین پتانسیل عملکرد دانه و همچنین میزان فاکتورهای ضدتغذیه‌ای کم‌تر می‌تواند به‌عنوان واریته جدید مورد مطالعه بیش‌تری قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین پژوهشکده ژنتیک و زیست-فناوری کشاورزی طبرستان قدردانی می‌گردد.

منابع

Adams, M.R., Golden, D.L., Franke, A.A., Potter, S.M., Smith, H.S. and Anthony, M.S. 2004. Dietary soy β-conglycinin (7S globulin) inhibits atherosclerosis in mice. The Journal of Nutrition, 134(3): 511-516. **(Journal)**

Amiri, A.M., Faraji, A., Ajamnorozei, H. and Payghamzadeh, K. 2013. Evaluation of agronomical and phonological traits of soybean cultivars at different management systems in gorgan region. Plant Ecophysiology (Arsanjan Branch), 5(14): 74-85. (In Persian)**(Journal)**

Armour, J.C., Perera, R.L.C., Bucham, W.C. and Grant, G. 1998. Protease inhibitors and lectins in soya beans and effects of aqueous heat-treatment. Journal of Science and Food Agriculture, 78: 225–31. **(Journal)**

Becker-Ritt, A.B., Mulinari, F., Vasconcelos, I.M. and Carlini, C.R. 2004. Antinutritional and/or toxic factors in soybean (*Glycine max* (L) Merril) seeds: comparison of different cultivars adapted to the southern region of Brazil. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84(3): 263-270. **(Journal)**

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein of utilizing the principle dye binding. Analyz Biochemistry, 72: 680-685. **(Journal)**

Carrao-Panizzi, M.C., Kwanyuen, P., Erhan, S.Z. and Lopes, I.D.O.N. 2008. Genetic variation and environmental effects on beta-conglycinin and glycinin content in Brazilian soybean cultivars. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 43(9): 1105-1114. **(Journal)**

Ciabotti, S., Silva, A.C.B.B., Juhasz, A.C.P., Mendonca, C.D., Tavano, O.L., Mandarino, J.M.G. and Gonçalves, C.A.A. 2016. Chemical composition, protein profile, and isoflavones content in soybean genotypes with different seed coat colors. International Food Research Journal, 23(2): 621-629. **(Journal)**

Cober, E.R. and Voldeng, H.D. 2000. Developing high-protein, high yield soybean populations and lines. Crop Science, 40: 39-42. **(Journal)**

De Muelenaere, H.J.H. 1964. Effect of heat treatment on the haemagglutinating activity of legumes. Nature, 201: 1029-1030. **(Journal)**

Fasina, Y.O., Classen, H.L., Garlich, J.D., Swaisgood, H.E. and Clare, D.A. 2003. Investigating the possibility of monitoring lectin levels in commercial soybean meals intended for poultry feeding using steam-heated soybean meal as a model. Poultry Science, 82(4): 648-656. **(Journal)**

Fehr, W.R., Hoeck, J.A., Johnson, S.L., Murphy, P.A., Nott, J.D., Padilla, G.I. and Welke, G.A. 2003. Genotype and environment influence on protein components of soybean. Crop Science, 43:511–514. **(Journal)**

Friedman, M. and Brandon, D.L. 2001. Nutritional and health benefits of Soy proteins. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 49: 1069-1086. **(Journal)**

Ghanbari, S., Nooshkam, A., Fakheri, B.A. and Mahdinezhad, N. 2018. Assessment of Yield and Yield Component of Soybean Genotypes (*Glycine Max* L.) in North of Khuzestan. Journal of Crop Science and Biotechnology, 21(5): 435-441. **(Journal)**

Gu, C., Pan, H., Sun, Z. and Qin, G. 2010. Effect of soybean variety on anti-nutritional factors content and growth performance and nutrients metabolism in rat. International Journal of Molecular Sciences, 11: 1048-1056. **(Journal)**

Hymowitz, T. and Kaizuma, N. 2008. Dissemination of soybeans (*Glycine max*): Seed protein electrophoresis profiles among Japanese cultivars. Econimic Botany, 10(1007): 311-319. **(Journal)**

Iqbal, S., Mahmood, T., Tahira, M., Ali, M., Anwar, M. and Sarwar, M. 2003. Path coefficient analysis in different genotypes of soybean (*Glycine max (L)* Merril). Pakistan Journal of Biological Sciences, 6: 1085-1087. **(Journal)**

Kitamura, K. 1995. Genetic improvement of nutrition and food processing quality in soybean. Japan Agricultural Research Quarterly, 29: 1-8. **(Journal)**

Krishnan, H.B., Kim, W., Jang, S. and Kerley, M.S. 2009. All three subunits of soybean β-Conglycinin are potential food allergens. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 57: 938-943. **(Journal)**

Krishnan, H.B., Natarajan, S.S, Mahmoud, A.A. and Nelson, R.L. 2007. Identification of glycinin and β-conglycinin subunits that contribute to the increased protein content of high-protein soybean lines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(5): 1839-1845. **(Journal)**

Lajalo, F.M. and Genevese, M. 2002. Nutritional significance of lectins and enzyme inhibitors from legumes. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50: 6592–6598. **(Journal)**

Lee, H.S., Shin, Y.W., Kim, J.G. and Park, Y.H. 2004. Evaluation of protein dispersibility index as an indicator for soybean meal protein quality in growing pigs: I. Metabolic study. Journal of Dairy Science, 87: 174-174. **(Journal)**

Liener, I.E. 1995. Possible adverse effects of soybean anticarcinogens. Journal of Nutrition, 125: 744-750. **(Journal)**

Liener, I.E. 1996. Effects of processing on antinutritional factors in legumes: the soybean case. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, 44: 48S–54S. **(Journal)**

Liener, I.E. and Kakade, M.L. 1980. Protease Inhibitors. In: Liener, .IE. (ed) Toxic constituents of plant food stuff. Academic Press, New York, pp 7–71. **(BOOK)**

Lin, P., Ye, X. and Ng, T.B. 2008. Purification of melibiose-binding lectins from two cultivars of Chinese black soybeans. Acta Biochimica Biophysica Sinica, 40(12):1029-1038. **(Journal)**

Liu, K. 2000. Expanding soybean food utilization. Journal of Food Technology, 54(7): 46–58. **(Journal)**

Livingstone, D., Beilinson, V., Kalyaeva, M., Schmidt, M.A., Herman, E.M. and Nielsen, N.C. 2007. Reduction of protease inhibitor activity by expression of a mutant Bowman-Birk gene in soybean seed. Plant Molecular Biology, 64(4): 397-408. **(Journal)**

Malik, M.F., Ashraf, M.U., Qureshi, A.S. and Khan, M.R. 2011. Investigation and comparison of some morphological traits of the soybean populations using cluster analysis. Pakistan Journal of Botany, 43(2): 1249-55. **(Journal)**

Mandal, S., Sahana, N., Rajarani, A.P. and Santha, I.M. 2013. Molecular cloning, characterization and expression of lipoxygenase 2 (lox-2) isozyme from Indian soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cv. Pusa 16. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, 50(1): 54-63. **(Journal)**

Norton, G. 1991. Proteinase inhibitors. In: D'Mello, F.J.P., Duffus, C.M., Duffus, J.H. (eds) Toxic substances in crop plants. The royal society of chemistry, Cambridge UK, pp 68-106. **(Book)**

Novak–Hajosa, M., Szamosb, J., Gasztonyib, M. and Hajosb, G.Y. 2010. Characterization of 2-propanol soluble seed proteins in mutant soybean (*Glycine max*) lines. Acta Alimentaria, 39(2): 164–168. **(Journal)**

Pesic, M., Vucelic-Radovic, B., Barac, M., Stojanovic, S. and Nedovic, V. 2007. Influence of different genotypes on trypsin inhibitor levels and activity in soybeans. Sensors, 7: 67-74. **(Journal)**

Sano, K. and Ogawa, H. 2014. Hemagglutination (inhibition) assay. Methods in Molecular Biology, 1200: 47–52. **(Journal)**

Schmidt, M.A., Hymowitz, T. and Herman, E.M. 2015. Breeding and characterization of soybean triple null; a stack of recessive alleles of Kunitz trypsin inhibitor, soybean agglutinin, and P34 allergen nulls. Plant Breeding, 134(3): 310-315. **(Journal)**

Schulze, H., Saini, H.S., Huisman, J., Hessing, M., Van Der Berg, W. and Verstegen, M.W.A. 1995. Increased nitrogen secretion by inclusion of soya lectin in the diets of pigs. Journal of the Science of Food and Agriculture, 69: 501–510. **(Journal)**

Sharma, S., Kaur, M., Goyal, R. and Gill, B.S. 2014. Physical characteristics and nutritional composition of some new soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) genotypes. Journal of Food Science and Technology, 51(3): 551–557. **(Journal)**

Silva, M.S., Naves, M.M.V., Oliveira, R.B.D. and Leite, O.D.S. 2006. Chemical composition and protein value of the soybean residue in relation to the soybean grain. Food Science and Technology, 26(3): 571-576. **(Journal)**

Taski-Ajdukovic, K., Djordjevic, V., Vidic, M. and Vujakovic, M. 2010. Subunit composition of seed storage proteins in high-protein soybean genotypes. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 45: 721-729. **(Journal)**

Yasothai, R. 2016. Antinutritional factors in soybean meal and its deactivation. International Journal of Science, Environment and Technology, 5(6): 3793-3797. **(Journal)**

Zarkadas, C.G., Gagnon, C., Gleddie, S., Khanizadeh, S., Cober, E.R. and Guillemette, R.J.D. 2007. Assessment of the protein quality of fourteen soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars using amino acid analysis and two-dimensional electrophoresis. Food Research International, 40: 129-146. **(Journal)**

Zarkadas, C.G., Voldeng, H.D., Yu, Z.R. and Choi, V. 1999. Assessment of the protein quality of nine northern adapted yellow and brown seed coated soybean cultivars by amino acid analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 5009-5018. **(Journal)**

Zilic, S., Sredojevic. S., Bozovic, I. and Jovanovic, M. 1998. Effects of the Kunitz trypsin inhibitor content on grain yield, total protein and oil content in soybean seed. Savremena poljoprivreda, 3(4): 67-70. **(Journal)**

Evaluation of agronomic and biochemical properties of seed storage protein quality in different soybean genotypes [*Glycine Max* (L.) Merrill]

Mehdi Arefrad[1*], NadAli Babayian Jelodar[2], GhorbanAli Nematzadeh[3], Ali Dehestani[4]

Received: June 2, 2019 Accepted: August 25, 2019

Abstract

Soybeans are considered as a main source of oil and protein production in the world. On the other hand, soybean seeds are one of the most important sources of protein that is directly or indirectly (in the livestock industry) in the human diet due to its favorable and inexpensive proteins. In this study some of agronomic characteristics (such as: plant height, number of branches, number of pods, seed weight, seed yield and day to maturity) and also seed storage protein quality properties (such as: soluble protein content, protease inhibitors contents and lectin protein) in six mutant lines and nine cultivars were studied. The results demonstrated that the 032-240-D-P1 and 032-240-D-P4 mutant lines have a high grain yield potential in addition to desirable agronomic traits. In terms of qualitative properties of grain proteins, Nekador and Caspian cultivars had the highest protein and the highest of albumin and globulin storage proteins, respectively. Also, the evaluation of anti-nutritional factors also revealed that all the mutant lines and Arian cultivar had the lowest protease inhibitors (PIA) and lectin (HAU) protein, which could be considered as promising genotypes for the soybean breeding programs. Results from this study suggested that the 032-240-D-P4 mutant line by high seed yield and the lowest of anti-nutritional factors could be studied as a new variety.

Keyword: Agronomic traits; Anti-nutrients proteins; Lectin protein; Protease inhibitors; Soybean

How to cite this article

Arefrad, M., Babayian Jelodar, N., Nematzadeh, G. and Dehestani, A. 2020. Evaluation of agronomic and biochemical properties of seed storage protein quality in different soybean genotypes [*Glycine Max* (L.) Merrill]. Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(3): 391-404. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2020.4599

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Ph.D Candidate of Molecular Genetics and Genetics Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari, Iran
2. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran
3. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari, Iran
4. Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari, Iran.

*Corresponding author: Mehdiarefrad@yahoo.com