نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد دهم، شماره اول، بهار ۹۶
۱۱۵-۱۲۸
http://ejcp.gau.ac.ir

بررسی تغییرات عملکرد، ترکیب اسیدهای آمینه و پروتئین دانه گندم با کاربرد اسید فولیک

عادل جوادی[۱]، *عزت‌اله اسفندیاری[۲]، علیرضا پورمحمد[۳] و آرمن آوانس[۴]

[۱]دانش‌آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، [۲]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، [۳]استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، [۴]استادیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۱/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/٤

چکیده

سابقه و هدف: سوء تغذیه یکی از مشکلات کنونی کشورهای در حال توسعه مانند ایران می‌باشد که کاهش تنوع غذایی از دلایل آن است. با توجه به این‌که گندم در تغذیه مردم این قبیل کشورها از جایگاه خاصی برخوردار است، محققین تلاش می‌کنند با افزایش میزان پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه آن به‌همراه میزان آهن انباشته شده در دانه، با تأمین مواد موردنیاز بدن به کاهش سوء تغذیه کمک نمایند. با توجه به نقش اسیدفولیک در انتقال بنیان‌های تک کربنه و تأثیر آن بر بهبود فرآیندهای متابولیسمی، در این پژوهش تأثیر کاربرد خارجی اسیدفولیک بر بهبود عملکرد کمی و کیفی گندم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش رقم گندم کوهدشت در آزمایش مزرعه‌ای با تراکم ۵۰۰ بذر در مترمربع و با فاصله ۲۰ سانتی‌متر بین ردیف‌ها در تاریخ ۱۵ فروردین ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کشت گردید. در این پژوهش تیمارهای مورد مطالعه شامل عدم استفاده از اسید فولیک (شاهد) و استفاده از اسید فولیک (پیش تیمار بذور با غلظت ۲۵ میکرومولار اسیدفولیک به‌همراه اسپری برگی این ویتامین در مرحله ساقه‌دهی و پیش تیمار بذور با غلظت ۲۵ میکرومولار اسیدفولیک به‌همراه اسپری برگی این ویتامین در مرحله سنبله‌دهی) بود. در این مطالعه عملیات محلول‌پاشی اسیدفولیک در ساعات پایانی روز با استفاده از سمپاش پشتی تلمبه‌ای به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول یاد شده به ازای هر مترمربع انجام گردید.

*مسئول مکاتبه: esfand1977@yahoo.com

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که در رقم کوهدشت کاربرد خارجی اسید فولیک سبب افزایش میزان عملکرد دانه در مقایسه با شاهد شد. همچنین، میزان پروتئین دانه، اسیدهای آمینه ضروری و عنصر آهن تجمع یافته در دانه در اثر کاربرد خارجی اسیدفولیک در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. به‌علاوه کاربرد خارجی اسیدفولیک سبب افزایش میزان کلروفیل در برگ پرچم در مقایسه با شاهد گردید.

نتیجه‌گیری: اگرچه در این مطالعه اثرات کاربرد خارجی اسیدفولیک بر روی دانه کامل مورد بررسی قرار گرفته است و بخشی از عنصر آهن انباشته شده در دانه به‌همراه پروتئین در فرآیند آردسازی حذف می‌گردد، اما با توجه به اثرات مثبت کاربرد خارجی اسید فولیک بر عملکرد، میزان پروتئین دانه، اسیدهای آمینه ضروری و تجمع آهن در دانه گندم می‌توان عنوان نمود که کاربرد خارجی اسیدفولیک می‌تواند راهکاری کوتاه مدت، برای بهبود هر دو بعد کمی و کیفی امنیت غذایی و کاهش اثرات منفی سوء تغذیه به‌شمار آید.

واژه‌های کلیدی: آهن، اسیدهای آمینه ضروری، اسید فیتیک، سوء تغذیه، گندم

مقدمه

امروزه پتریدین‌ها به‌ویژه پترین‌ها و مشتقات اسیدفولیک به‌دلیل نقش‌های چندگانه‌ای که در سلول‌های گیاهی برعهده دارند مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند (۲۶). این ترکیبات در واکنش‌های متعددی شرکت می‌کنند که می‌توان به تثبیت دی اکسید کربن در فتوسنتز (بیوپترین) (۱۷) و تبدیلات بیوشیمیایی نیتروژن، کربن و سولفور (مولیبدوپترین) (۱۶) اشاره کرد. اسید فولیک یا ویتامین ب ۹ از ترکیب هسته پتریدینی، اسید پارا آمینوبنزوئیک و اسید گلوتامیک تشکیل شده است. این ویتامین در گیاهان فقط در فرم احیای خود یعنی اسید تتراهیدروفولیک و کوآنزیم‌های اسید تتراهیدروفولیک فعال می‌باشد (۱۳). اسید فولیک توسط آنزیم تتراهیدروفولات ردوکتاز (EC 1.5.1.3) احیا می‌گردد (۲۶). فرم کوآنزیمی این ویتامین، در سلول‌های گیاهی در انتقال بنیان‌های تک کربنه مانند فرمیل، متیلن، اکسی متیل، متنیل و فرمیمینو ایفای نقش می‌کند (۱۹) که می‌توان به بیوسنتز اسیدهای آمینه گلیسین و متیونین اشاره نمود (۱۳). در بیوسنتز بازهای پورینی فرمیل تتراهیدروفولات به‌همراه اسیدهای آمینه گلیسین، آسپارتات و گلوتامین به‌عنوان سوبسترای اولیه مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۰). آدنیلات و گوانیلات از جمله بازهای پورینی است که در ساختار اسیدهای نوکلئیک شرکت می‌کند. همچنین، اسید فولیک با انتقال بنیان تک کربنه متیل بر روی دزوکسی تیمیدیلات آن را به دزوکسی یوریدیلات تبدیل می‌نماید. دزوکسی تیمیدیلات و دزوکسی یوریدیلات جزو بازهای پورینی بوده و در ساختار DNA حضور می‌یابند (۱۹). موارد فوق حاکی از نقش مستقیم اسید فولیک در بیوسنتز برخی از اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک می‌باشد و بر همین اساس، محققین معتقدند که مشتقات اسید فولیک نقش بسیار مهمی در فرآیندهای متابولیسمی سلول‌های زنده برعهده دارد. به‌طوری که، در تحقیقی نشان داده شده است که با کاربرد خارجی اسید فولیک در مراحل فنولوژیکی مختلف جو و گندم عملکرد دانه، میزان اسیدهای آمینه (ضروری و غیرضروری) و پروتئین دانه این گیاهان افزایش یافته است (۲۶). سوء تغذیه یکی از مشکلات کنونی جوامع انسانی به‌خصوص کشورهای در حال توسعه می‌باشد که در دو شکل دریافت کم انرژی- پروتئین و ریزمغذی‌ها اتفاق می‌افتد. از دلایل بروز سوء تغذیه در کشورهای در حال توسعه می‌توان به تنوع غذایی کم مردم اشاره کرد. به‌طوری که در این کشورها غلات منبع اصلی تامین پروتئین و ریزمغذی‌ها به‌شمار می‌آیند. به‌عنوان مثال در اکثر کشورهای آسیای میانه و غرب آسیا، به‌طور متوسط گندم نزدیک به ۵۰ درصد انرژی روزانه موردنیاز مردم را تأمین می‌کند که در مناطق روستایی به بیش از ۷۰ درصد می‌رسد (۹). صرف‌نظر از میزان

پروتئین این گیاه، متاسفانه کیفیت پروتئین گندم همانند پروتئین سایر گیاهان پائین می‌باشد (۱۵). همچنین، گندم ذاتاً دارای مقدار روی و آهن کمی در دانه می‌باشد. علاوه‌بر آن، در دانه گندم ترکیبات ضد تغذیه‌ای مانند اسید فیتیک حضور دارند که جذب ریزمغذی‌هایی مانند روی و آهن را در بدن انسان کاهش می‌دهند (۱۲). به همین دلیل محققین تلاش می‌کنند با استفاده از روش‌های به‌زراعی و به‌نژادی عملکرد کمی و کیفی گندم را افزایش دهند. بر این اساس، هدف از این پژوهش مطالعه اثرات کاربرد خارجی اسیدفولیک بر عملکرد کمی و کیفی گندم بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش مزرعه‌ای در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در خاک لومی بر روی رقم گندم کوهدشت در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه اجر گردید. برای تعیین مشخصات مکانیکی و برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش نمونه‌برداری در عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر صورت گرفت (جدول ۱). خاک محل آزمایش با انجام عملیات‌های شخم، دیسک و تسطیح آماده گردید و به کرت‌هایی در اندازه‌های ۳×۲/۵ متر تقسیم‌بندی شد. بذور ضد عفونی شده رقم کوهدشت گندم با تراکم ۵۰۰ بذر در مترمربع و با فاصله ۲۰ سانتی‌متر بین ردیف‌ها در تاریخ ۱۵ فروردین ۱۳۹۳ کشت گردید. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای مورد مطالعه شامل عدم استفاده از اسید فولیک (شاهد) و استفاده از اسیدفولیک (پیش تیمار بذور با غلظت ۲۵ میکرومولار اسید فولیک به‌همراه اسپری برگی این ویتامین در مرحله ساقه‌دهی (T۱) و پیش تیمار بذور با غلظت ۲۵ میکرومولار اسیدفولیک به‌همراه اسپری برگی این ویتامین در مرحله سنبله‌دهی (T۲)) بود. غلظت مورد استفاده از میان هفت غلظت (۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ میکرومولار) که در مطالعات پیشین مورد بررسی قرار گرفته بود، تعیین گردید. برای جذب بهتر اسید فولیک از سطح برگ ضمن اضافه نمودن چند قطره توئین به‌عنوان مویان به محلول مورد استفاده، عملیات محلول‌پاشی با استفاده از سمپاش پشتی تلمبه‌ای به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول یاد شده به ازای هر مترمربع انجام گردید. لازم به‌ذکر است که برای کاهش میزان تبخیر محلول یاد شده از سطح برگ در اثر تابش نور خورشید و همچنین، تجزیه شدن اسیدفولیک در شدت نور زیاد، محلول‌پاشی در ساعات پایانی روز انجام گرفت.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری.

Table 1. Physical and chemical characteristics of the soil at 0 to 30 cm depth.

هدایت الکتریکی	اسیدیته	آهن قابل جذب	مس قابل جذب	روی قابل جذب	پتاس قابل جذب	فسفر قابل جذب	نیتروژن کل	شن	سیلت	رس	بافت خاک (Soil Texture)
		(میلی‌گرم در کیلوگرم)					(درصد)(%)	(درصد) (%)			
EC ($dS.m^{-1}$)	pH	Available Iron	Available Copper	Available Zinc	Available Potassium	Available Phosphorous	Total Nitrogen	Sand	Silt	Clay	لوم (Lom)
		($mg.kg^{-1}$)					(درصد)	(درصد)			
0.49	6.81	2.39	0.5	0.41	102.16	8.43	0.1	47.6	35.2	17.2	

شایان ذکر است که به استناد نتایج آزمون خاک (جدول ۱) لازم بود که عناصر فسفر، نیتروژن، آهن و روی به خاک اضافه گردد. علیرغم نیاز به عناصر یاد شده، تنها ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره طی سه مرحله (یک سوم در هنگام کاشت، یک سوم در مرحله پنجه‌زنی و یک سوم باقیمانده در مرحله قبل از گلدهی) استفاده گردید و از اضافه نمودن سایر عناصر به خاک و یا کاربرد ریزمغذی‌ها به شکل‌های دیگر صرف‌نظر شد. زیرا یکی از فرضیه‌های مورد بررسی در این پژوهش تأثیر کاربرد خارجی اسید فولیک بر رهاسازی و جذب فرم غیر قابل جذب عناصر مورد اشاره بود.

اندازه‌گیری عنصر آهن: ۰/۵ گرم از دانه‌های کاملاً آسیاب شده توزین و به لوله هضم منتقل و ۵ سی‌سی اسید نیتریک غلیظ به‌روی آن‌ها اضافه شد و به‌مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از سرد شدن نمونه‌ها، ۲/۵ سی‌سی اسید پرکلریک غلیظ اضافه شد و به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از پایان زمان فوق و سرد شدن نمونه‌ها، با استفاده از کاغذ صافی نمونه‌ها صاف شده و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ سی‌سی رسانده شد. در نهایت با استفاده از دستگاه جذب اتمی (SHIMADZU مدل AA-63000، ساخت کشور ژاپن) میزان عناصر یاد شده اندازه‌گیری گردید (۱۱).

اندازه‌گیری میزان اسیدهای آمینه: از ۲۰ اسید آمینه شرکت کننده در ساختار پروتئین‌ها، ۱۵ اسید آمینه شامل ۸ اسید آمینه ضروی (والین، ایزولوسین، لیزین، لوسین، ترئونین، متیونین، فنیل‌آلانین و هیستدین)

و ۷ اسید آمینه غیرضروری (آلانین، سرین، اسید آسپارتیک، اسید گلوتامیک، تیروزین، آرژینین و گلیسین) موجود در دانه با استفاده از دستگاه آمینو اسید آنالیزر کالیبره شده (مدل A200)، تعیین شد. لازم به‌ذکر است که با یکبار تزریق به دستگاه، پیک اسیدهای آمینه ذکر شده به‌دست می‌آید. از آنجا که تعیین میزان اسید آمینه ضروری تریپتوفان نیاز به تزریق یک نوع Mobile phase دیگر داشت و این امر مستلزم صرف هزینه مجدد بود، به‌دلیل محدودیت مالی از اندازه‌گیری میزان این اسید آمینه صرف نظر شد (۲۵).

میزان پروتئین دانه: اگرچه نیتروژن در ساختار بیومولکول‌های مختلف شرکت می‌کند، اما اندازه‌گیری پروتئین به روش کجلدال براین اساس می‌باشد که تمامی نیتروژن موجود در نمونه، در ساختار پروتئین حضور دارد. بدین منظور ابتدا نیتروژن کل با روش کجلدال اندازه‌گیری و سپس درصد پروتئین نمونه‌ها با اعمال ضریب ٦/٢٥ (فاکتور پروتئین) محاسبه شد (۱۱).

میزان اسید فیتیک: ٦٠ میلی‌گرم از نمونه آردی خشک و آسیاب شده، با ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (۰/۲ نرمال) در دمای اتاق به‌مدت ۲ ساعت به‌طور مداوم شیک گردید تا عصاره‌گیری شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از این عصاره به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و یک میلی‌لیتر از محلول سولفات آهن آمونیوم (۰/٤ میلی‌مولار، حل شده در محلول ۰/۲ نرمال اسید کلریدریک) به آن اضافه گردید. لوله‌های آزمایش محتوی ترکیب مورد اشاره، به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از پایان این زمان، لوله‌ها در آب سرد به‌مدت ۱۵ دقیقه نگهداری و خنک شدند. پس از رسیدن به دمای اتاق، محتوای لوله‌ها مخلوط و در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در نهایت با افزودن ۲ میلی‌لیتر محلول بی‌پیریدین، جذب در طول موج ۵۱۹ نانومتر با دستگاه الایزا (مدل BioTek, Powre Wave XS2) قرائت گردید. برای محاسبه میزان اسید فیتیک موجود در نمونه‌ها از منحنی استاندارد استفاده شد (۱۸).

تجزیه داده‌های حاصل با نرم‌افزار Genstate 12 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2013 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

کاربرد خارجی اسید فولیک سبب افزایش عملکرد دانه در مقایسه با عدم کاربرد آن شد. به‌طوری که در این مطالعه میزان عملکرد دانه گندم در اثر کاربرد خارجی اسید فولیک از ۱۱۸/۲ گرم در

مترمربع در شاهد به ۱۷۰/۲ و ۱٤۹/۹ گرم در مترمربع به‌ترتیب در اثر تیمارهای T۱ و T۲ رسید (جدول ۳). افزایش پارامترهای تأثیرگذار بر عملکرد دانه مانند تعداد پنجه‌های بارور در بوته، تعداد سنبلچه در سنبله و تعداد دانه در سنبله از دلایل افزایش عملکرد دانه در اثر کاربرد خارجی اسید فولیک در مقایسه با شاهد می‌باشد (نتایج آورده نشده است). تأثیر کاربرد خارجی اسیدفولیک در افزایش عملکرد در گیاهان جو، گندم و نخود نیز گزارش شده است (٤، ۲۳ و ۲٦). به‌طوری که، در مطالعات جداگانه صورت گرفته بر روی جو و گندم افزایش میزان عملکرد دانه در اثر بهبود اجزای عملکرد دانه مانند تعداد پنجه بارور در بوته و تعداد دانه در سنبله در اثر کاربرد خارجی اسید فولیک گزارش شده است (٤ و ۲۳). اما، در مطالعه دیگری که بر روی جو و نخود انجام شده است افزایش عملکرد در اثر کاربرد خارجی اسید فولیک را ناشی از افزایش وزن هزار دانه و تعداد دانه‌های پر در بوته عنوان کرده‌اند (۲٦).

با توجه به اهمیت گندم در تغذیه مردم کشور توجه به کیفیت آن به‌خصوص از نظر میزان ریزمغذی‌ها مانند آهن، میزان حضور ترکیبات ضد تغذیه‌ای مانند اسید فیتیک و عملکرد کمی و کیفی پروتئین با هدف کمک به بهبود شرایط تغذیه‌ای مردم به‌ویژه اقشار کم درآمد و آسیب‌پذیر ضروری می‌باشد. براین اساس در این پژوهش، تأثیر کاربرد خارجی اسید فولیک بر میزان آهن و اسیدفیتیک به‌همراه میزان پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه موجود در دانه گندم مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که میزان آهن انباشته شده در دانه در اثر تیمارهای T۱ و T۲ در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲). همچنین، کاربرد خارجی اسید فولیک توانست میزان اسید فیتیک موجود در دانه گندم را در مقایسه با شاهد کاهش دهد (جدول ۲). کم خونی ناشی از فقر آهن از مشکلات کنونی جامعه می‌باشد که دلیل اصلی آن تنوع پائین رژیم غذایی مردم این کشورها و نقش عمده غلات به‌خصوص گندم در تأمین انرژی و ریزمغذی‌ها است. گندم ذاتاً دارای آهن و روی کمی (بین ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بوده (۲۲) و همچنین دارای ترکیبات ضد تغذیه‌ای مانند اسید فیتیک می‌باشد که جذب این عناصر را در بدن کاهش می‌دهند (۸). جهت مقابله با اثرات منفی کمبود ریزمغذی‌ها از جمله آهن، از روش‌های مکمل‌یاری و غنی‌سازی مواد غذایی استفاده می‌گردد که می‌توان به غنی‌سازی آرد گندم با اسیدفولیک و آهن از سال ۱۳۸٦ در ایران اشاره کرد. در این طرح در راستای مقابله با کم خونی ناشی از فقر آهن، اسیدفولیک و آهن به‌ترتیب به‌میزان ۱/۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آرد اضافه می‌گردد. بررسی‌های انجام گرفته حاکی از تاثیر مثبت غنی‌سازی آرد با اسید

فولیک و آهن بر کاهش کم خونی و شیوع آن می‌باشد (۲٤). علیرغم تمامی مزیت‌ها، این روش تنها بعد کیفی امنیت غذایی (افزایش میزان ریزمغذی‌ها) را هدف قرار داده است و بر بعد کمی آن تأثیری ندارد. امروزه محققین به‌دنبال راهکاری هستند که ضمن افزایش عملکرد گیاهان زراعی، بتوانند کیفیت آن‌ها را بهبود بخشند. غنی‌سازی زیستی روشی است که هر دو بعد کمی و کیفی امنیت غذایی را به‌طور همزمان متأثر می‌کند و محققین بسیاری (۱، ۲، ۳، ٦، ۷، ۱۲، ۱٤، ۱۵ و ۲۲) آن را مناسب‌ترین راه برای بهبود امنیت غذایی و کاهش سوء تغذیه عنوان می‌کنند. با در نظر گرفتن موارد فوق، میزان ریزمغذی‌های موجود در دانه گندم از جمله آهن و روی از مهمترین فاکتورهای کیفی محسوب می‌گردد. در این تحقیق علیرغم پائین بودن میزان آهن و روی قابل جذب در خاک از استفاده آن‌ها خودداری گردید. از دلایل آن بررسی امکان تأثیر کاربرد خارجی اسیدفولیک بر توان جذب عناصر ریزمغذی از خاک بود. نتایج حاصل نشان داد که کاربرد خارجی اسیدفولیک سبب افزایش میزان آهن و کاهش میزان اسید فیتیک موجود در دانه شد (جدول ۲). لازم به‌ذکر است که با وجود کاهش میزان اسید فیتیک، هنوز میزان آن بالا می‌باشد، اما این سوال را در ذهن ایجاد می‌کند که کاربرد خارجی اسیدفولیک چگونه توانسته است سبب کاهش آن در گندم گردد؟ رسیدن به جواب قطعی در مورد این‌که اسیدفولیک چگونه توانسته است میزان اسید فیتیک را کاهش دهد نیازمند مطالعات دیگری در این زمینه است. افزایش میزان آهن انباشته شده در دانه در اثر کاربرد اسیدفولیک توسط در جو و گندم نیز گزارش شده است (٤، ۲۱ و ۲۲).

نتایج اندازه‌گیری میزان پروتئین دانه نشان داد که در میان تیمارهای کاربرد خارجی اسیدفولیک تنها تیمار T۱ توانست میزان پروتئین دانه را در مقایسه با شاهد افزایش نشان دهد (جدول ۲) که دلیل آن ناشی از افزایش بیشتر میزان اسیدهای آمینه در این تیمار در مقایسه با تیمار T۲ بود (جدول ۲). افزایش میزان پروتئین گندم به دلیل نقش تغذیه‌ای ویژه آن در تغذیه مردم کشورهای در حال توسعه از اهمیت بالایی برخوردار است. زیرا طبق گزارش سازمان خواروبار جهانی، سالانه در حدود ٦۳۰ میلیون تن گندم در جهان تولید می‌گردد که با احتساب میانگین ۱۰ درصد پروتئین برای آن، این محصول سالانه ٦۳ میلیون تن پروتئین تولید می‌کند که حاکی از نقش ویژه این گیاه در تأمین پروتئین مورد نیاز جامعه بشری است. براین اساس محققین تلاش می‌کنند که با استفاده از راهکارهای مختلف میزان پروتئین دانه گندم را افزایش دهند که از جمله می‌توان به کاربرد خارجی اسیدفولیک (۲٦) و افزایش میزان روی با استفاده از روش‌های به‌زراعی و به‌نژادی (۸ و ۹) اشاره نمود. افزایش میزان

پروتئین دانه در گندم، نخود و جو در اثر کاربرد خارجی اسید فولیک گزارش شده است (۲۲ و ۲۶). اسیدفولیک سبب افزایش میزان اسید گلوتامیک و میتونین در گیاهان شده و از این طریق بر پروتئین‌سازی تاثیر گذاشته و میزان آن را افزایش می‌دهد (۲۶). زیرا اسید گلوتامیک علاوه‌بر شرکت در ساختار این ویتامین به‌عنوان ریشه جانبی، در انتقال بنیان آمین موردنیاز برای ایجاد سایر اسیدهای آمینه نقش ایفا می‌کند. از طرفی متیونین اولین اسید آمینه‌ای است که در پروتئین‌سازی در ابتدای توالی اسیدهای آمینه قرار می‌گیرد (۱۳).

جدول ۲- تاثیر کاربرد اسیدفولیک بر میزان آهن، اسید فیتیک، پروتئین و عملکرد دانه گندم.

Table 2. Effect of folic acid application on iron content, phytic acid, protein and yield of wheat.

پارامتر	Parameter	شاهد Control	پیش‌تیمار + محلول‌پاشی در مرحله ساقه‌دهی (T۱) Seed priming + Spray at stemming stage (T_1)	پیش‌تیمار + محلول‌پاشی در مرحله سنبله‌دهی (T۲) Seed priming + Spray at heading stage (T_2)
عملکرد (گرم بر مترمربع)	Yield (g/m^2)	118.2^{c} (100)*	170.2^{b} (144)	194.9^{a} (164.9)
آهن (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	Iron (mg/kg)	47.1^{c} (100)	61.8^{b} (131.1)	77.9^{a} (165.3)
اسید فیتیک (میلی‌گرم بر گرم)	Phytic acid (mg/g)	102.11^{a} (100)	84.18^{b} (82.4)	52.23^{c} (51.2)
پروتئین (درصد)	Protein (%)	18.5^{b} (100)	20.6^{a} (111.3)	19.1^{b} (102.9)

*اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد تغییرات در مقایسه با شاهد می‌باشند.

در این پژوهش کاربرد خارجی اسیدفولیک میزان اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری را در هر دو تیمار T۱ و T۲ (به‌جز سرین در تیمار T۲) در مقایسه با شاهد افزایش داد. همچنین، مجموع اسیدهای آمینه ضروری و مجموع ترئونین و لیزین در مقایسه با شاهد در اثر کاربرد خارجی اسیدفولیک افزایش یافت (جدول ۳). علی‌رغم اهمیت کمیت پروتئین گندم، لازم است کیفیت پروتئین آن نیز مورد توجه قرار گیرد. کیفیت تغذیه‌ای پروتئین با استفاده از شاخص‌های متعددی ارزیابی می‌گردد که میزان نسبی و تعادل بین اسیدهای آمینه ضروری موجود در آن از جمله معیارهای تعیین ارزش تغذیه‌ای پروتئین می‌باشد (۲۵). در پروتئین گندم میزان اسیدهای آمینه لیزین و ترئونین محدود بوده و همین عامل سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای آن می‌گردد. با توجه به اهمیت گندم در تأمین پروتئین موردنیاز مردم و مقرون به‌صرفه‌تر بودن تولید پروتئین‌های گیاهی در مقایسه با پروتئین‌های جانوری و محدودیت اسیدهای آمینه لیزین و ترئونین، در حال حاضر محققین کشاورزی تلاش می‌کنند که با استفاده از راهکارهایی ضمن افزایش میزان پروتئین و ارزش تغذیه‌ای آن را افزایش دهند. بر این اساس در این پژوهش، این سوال مطرح گردید که آیا کاربرد خارجی اسیدفولیک می‌تواند همراه با

افزایش میزان پروتئین دانه (بعد کمی آن)، میزان اسیدهای آمینه ضروری (بعد کیفی آن) را افزایش دهد؟ همچنین، از دیگر سوالاتی که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت این بود که آیا کاربرد خارجی اسیدفولیک بر میزان اسیدهای آمینه به‌ویژه اسیدهای آمینه تاثیری دارد؟ اسیدفولیک به‌عنوان ناقل بنیان تک کربنه در بیوسنتز اسیدهای آمینه گلیسین و متیونین به‌طور مستقیم ایفای نقش می‌کند (۷). بدین ترتیب که با برداشتن گروه هیدروکسی متیل از روی سرین، آن را به گلیسین تبدیل می‌نماید (۵). به‌علاوه، با انتقال گروه متیل بر روی هموسیستئین، متیونین را تولید می‌کند (۵). با توجه به کاربرد خارجی اسیدفولیک و اثر مستقیم آن بر بیوسنتز اسیدهای آمینه گلیسین و متیونین، این فرضیه تداعی گردید که آیا افزایش آن می‌تواند میزان آن‌ها را در دانه گندم افزایش دهد؟ بر این اساس میزان گلیسین و متیونین موجود در دانه گندم مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که در رقم کوهدشت میزان اسیدهای آمینه مذکور در اثر کاربرد خارجی اسیدفولیک در مقایسه با شاهد افزایش داشت (جدول ۳). افزایش گلیسین و متیونین در جو و نخود با کاربرد خارجی اسید فولیک گزارش شده است (۲٦). در بین اسیدهای آمینه، اسید گلوتامیک بیشترین میزان را به خود اختصاص داد (جدول ۳). این اسید آمینه در سلول‌های گیاهی دارای نقش‌های فیزیولوژیک متعددی می‌باشد که شرکت به‌عنوان سوبسترای اولیه بیوسنتز اسیدهای آمینه پرولین و آرژینین (۲۸) و همچنین، کلروفیل (۲۷) و سیتوکروم از جمله آن‌ها می‌باشد (۱٦). با توجه به افزایش میزان اسید گلوتامیک در اثر کاربرد خارجی اسید فولیک این سوال مطرح گردید که آیا افزایش این اسید آمینه سبب افزایش متابولیت‌های مذکور شده‌است یا خیر؟ در این راستا میزان آرژینین در دانه به‌همراه میزان کلروفیل در برگ پرچم اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که افزایش اسید گلوتامیک افزایش میزان آرژینین در دانه گندم (جدول ۳) و کلروفیل برگ پرچم (شکل ۱) را در پی داشت. افزایش میزان آرژینین در اثر کاربرد خارجی اسیدفولیک در جو و نخود نیز گزارش شده است (۲٦). همچنین، تأمین گروه آمین برای بیوسنتز اسیدهای آمینه والین، لیزین، ایزولوسین، لوسین، آرژینین، تیروزین و فنیل‌آلانین دیگر نقش فیزیولوژیک اسید گلوتامیک به‌شمار می‌آید (۱۳). بر این اساس میزان اسیدهای آمینه ذکر شده در دانه گندم اندازه‌گیری و نتایج نشان داد که کاربرد خارجی اسیدفولیک منجر به افزایش میزان آن‌ها در مقایسه با شاهد شده است (جدول ۳). بدین ترتیب با توجه به نتایج به‌دست آمده در اثر کاربرد خارجی اسیدفولیک میزان اسیدهای آمینه ضروری مورد مطالعه (والین، ایزولوسین، لوسین، ترئونین، متیونین، لیزین و فنیل‌آلانین) افزایش داشته‌اند (جدول ۳). در این پژوهش مجموع اسیدهای آمینه لیزین و ترئونین در اثر کاربرد خارجی اسیدفولیک افزایش نشان داد (جدول ۳) که ناشی از افزایش

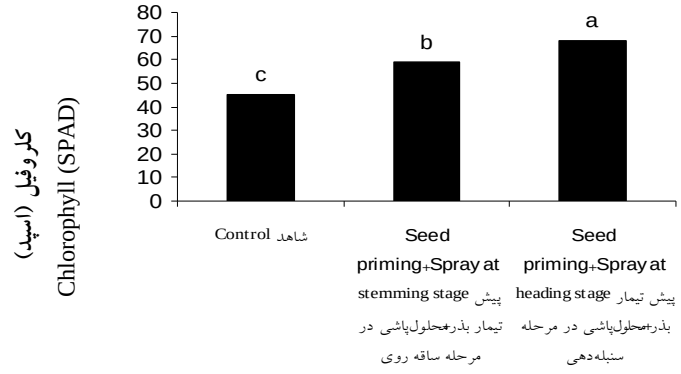
میزان اسیدهای آمینه یاد شده در اثر کاربرد خارجی اسید فولیک می‌باشد. افزایش میزان اسیدهای آمینه، مجموع اسیدهای آمینه ضروری و مجموع ترئونین و لیزین به‌همراه افزایش میزان کلروفیل در برگ پرچم می‌تواند بیانگر تأثیر اسیدفولیک بر بیوسنتز اسیدهای آمینه وابسته به اسیدفولیک می‌باشد که برآیند آن‌ها سبب بهبود کیفیت دانه می‌گردد (۲۶).

جدول ۳- تاثیر کاربرد اسیدفولیک بر ترکیب اسیدهای آمینه، مجوع اسیدهای آمینه ضروری و مجموع ترئونین و لیزین موجود در گندم.

Table 3. Effect of folic acid application on amino acids composition, sum of essential amino acid content and sum of lysine and threonine content in wheat.

اسید آمینه	Amino acid	شاهد Control	پیش‌تیمار + محلول‌پاشی در مرحله ساقه‌دهی (T۱) Seed priming + Spray at stemming stage (T_1)	پیش‌تیمار + محلول‌پاشی در مرحله سنبله‌دهی (T۲) Seed priming + Spray at heading stage (T_2)
آلانین	Ala	677.5^{c} (100)*	793.4^{a} (117.1)	715.4^{b} (105.6)
والین	Val	620.3^{c} (100)	684.2^{a} (110.3)	666^{b} (107.4)
ایزولوسین	Ileu	530.6^{c} (100)	589^{a} (111.0)	547^{b} (103.5)
سرین	Ser	969^{b} (100)	1116^{a} (115.2)	966^{c} (99.7)
آسپارتیک اسید	Asp	652.9^{c} (100)	743.4^{a} (113.8)	686.8^{b} (104.9)
گلوتامیک اسید	Glu	5399^{c} (100)	5570^{a} (103.2)	5451^{b} (101.0)
لیزین	Lys	404.2^{c} (100)	668.8^{a} (165.5)	525.6^{b} (110.8)
تیروزین	Tyr	501^{c} (100)	828.9^{a} (165.5)	651.4^{b} (130.0)
آرژنین	Arg	364.1^{c} (100)	518.2^{a} (142.3)	391.1^{b} (107.4)
گلیسین	Gly	344.9^{c} (100)	358.8^{b} (104.0)	367.5^{a} (106.6)
لوسین	Leu	1461^{c} (100)	1945^{a} (133.0)	1512^{b} (129.9)
ترئونین	Thr	893.4^{c} (100)	988.7^{a} (111.8)	948.8^{b} (106.2)
متیونین	Met	851.6^{c} (100)	962.9^{a} (113.1)	937.4^{b} (110.2)
فنیل آلانین	Phe	740.9^{c} (100)	784.6^{b} (105.9)	826^{a} (111.5)
هیستیدین	His	386.3^{c} (100)	389.4^{b} (100.8)	409.6^{a} (106.0)
میزان اسیدهای آمینه ضروری	Essential amino acid content	4464^{c} (100)	5435^{a} (121.8)	4877^{b} (109.3)
لیزین + ترئونین	Lys + Thr	1298^{c} (100)	1658^{a} (127.7)	1474^{b} (113.6)

*اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد تغییرات در مقایسه با شاهد می‌باشند.



شکل ۱- اثر کاربرد اسیدفولیک بر میزان کلروفیل برگ پرچم.

Figure 1. The effect of folic acid application on flag leaf chlorophyll content.

نتیجه‌گیری کلی

اگرچه در این مطالعه تمامی پارامترهای مورد سنجش در دانه کامل ارزیابی گردیده است و بخشی از عناصر و پروتئین دانه در فرآیند آردسازی حذف می‌گردد، اما به‌عنوان نتیجه کلی می‌توان بیان نمود که کاربرد اسیدفولیک با افزایش میزان اسیدهای آمینه موجود در دانه به‌ویژه اسیدهای آمینه ضروری، میزان پروتئین و عنصر آهن انباشته شده در دانه به‌همراه افزایش عملکرد و کاهش اسید فیتیک، روشی مناسب برای بهبود ابعاد کمی و کیفی گندم و کاهش اثرات منفی سوء تغذیه در کوتاه مدت می‌باشد.

سپاسگزاری

نتایج حاصل از این پژوهش بخشی از نتایج طرح غنی‌سازی گندم با آهن و روی مصوب وزارت علوم، تحقیقات و فناوری می‌باشد. بدین وسیله مؤلفین از حوزه معاونت پژوهشی وزارتخانه یاد شده بابت حمایت‌های مالی انجام گرفته تقدیر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1.Abdoli, M., Esfandiari, E., Sadeghzadeh, B., and Mosavi, S.B. 2016. Zinc application methods affect agronomy traits and grain micronutrients in bread and durum wheat under zinc-deficient calcareous soil. YYÜ TAR BİL DERG., 26: 202-214.

2.Abdoli, M., Esfandiari, E., Mosavi, S.B., and Sadeghzadeh, B. 2014. Effects of foliar application of zinc sulfate at different phonological stages on yield formation and grain zinc content of bread wheat (cv. Kohdasht). Azarian J. Agri., 1: 12-17.
3.Aciksoz, S., Yazici, A., Ozturk, L., and Cakmak, I. 2011. Biofortification of wheat with iron through soil and foliar application of nitrogen and iron fertilizers. Plant Soil., 349: 215-225.
4.Alaei, I. 2015. The effects of various methods application of folic acid on yield and yield components on barly (*Hordeum vulgar* L.). A thesis, in Agronomy field. (In Persian)
5.Amornkul, Y., DeVries, JW., and Krishnan, PG. 2013. 5-Methyltetrahydrofolate content of cereal-based processed foods. J. Hum. Nutr. Food Sci., 1: 1010-1015.
6.Bekaert, S., Storozhenko, S., Mehrshahi, P., Bennett, M.J., Lambert, W., Gregory, J.F., Schubert, K., Hugenholtz, J., Straeten, D., and Hanson, A.D. 2013. Folate biofortification in food plants. Trends in Plant Sci., 13: 28–35.
7.Blancquaert, D., De Steur, H., Gellynck X., and Van Der Straeten. 2014. Present and future of folate biofortification of crop plants. J. Exp. Bot., 65: 895-906.
8.Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? Plant Soil., 302: 1–17.
9.Cakmak, I., Torun, A., Millet, E., Feldman, M., Fahima, T., Korol, A., Nevo, E., Braun, H.J., and Ozkan, H. 2004. *Triticum dicoccoides*: an important genetic resource for increasing zinc and iron concentration in modern cultivated wheat. Soil Sci. Plant Nutr., 50: 1047-1054.
10.Deng, W.W., and Ashihara, H. 2010. Profiles of purine metabolism in leaves and roots of *Camellia sinensis* seedlings. Plant Cell Physiol. 51: 2105–2118.
11.Emami, A. 1996. Methods of Plant Analysis (Volume I). Ministry of Agriculture Press, 128p. (In Persian)
12.Esfandiari, E., Abdoli, M., Sadeghzadeh, B., and Mosavi, S.B. 2016. Impact of foliar zinc application on agronomic traits and grain quality parameters of wheat grown in zinc deficient soil. Ind. J. Plant Physiol., 21: 263-270.
13.Esfandiari, E., and Mahboob, S. 2014. Plant Biochemistry (Volume II). Tabriz University of Medical Science Press, 322p. (In Persian)
14.Esfandiari, E., Abdoli, M., and Rahamti, M. 2015. Evaluation of iodate toxicity (KIO3) on potato's (*Solanum tuberosum* L. cv. Agria) growth and its morpho-physiological characteristics and mineral nutrients contents at flowering stage. Azarian J. Agri., 2: 99-107.
15.Esfandiari, E., and Abdoli, M. 2016. Wheat biofortification through Zn foliar application and its effects on wheat quantitative and qualitative yields. YYÜ TAR BİL DERG., 26: 529-537.
16.Forde, BG., and Lea, PJ. 2007. Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signaling. J .Exp. Bot., 58: 2339–2358.

17.Fuller, RC., Kidder, G.W., Nugent, N.A., Dewey, V.C., and Rigopoulos, N.1971. The association and activities of pteridines of pteridines in photosynthetic systems. Phytochem Phytobiol., 14: 359-371.
18.Haug, W., and Lantzsch, H.J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereal products. J. Sci. Food Agric. 34: 1423-1426.
19.Hjortmo, S., Patring, J., Jastrebova, J., and Andlid, T. 2008. Biofortification of folates in white wheat bread by selection of yeast strain and process. Int. J. Food Microbiol. 127: 32-6.
20.Hover, BM., Loksztejn, A., Ribeiro, AA., and Yokoyama, K. 2013. Identification of cyclic nucleotide as a cryptic intermediate in molybdenum cofactor biosynthesis. J. Am. Chem. Soc., 135: 7019-7032.
21.Javadi, A., Esfandiari, E., Pourmohammad, A., and Avanes, A. 2016. Effects of the Folate foliar application at different growth stages on quantity and quality of the wheat yield. J. Crop Prod., 9: 57-70. (In Persian)
22.Mohamed, N. 2013. Behaviour of wheat cv. Masr-1 plants to foliar application of some vitamins. Nat. Sci., 11: 1-5.
23.Sadeghi Razlighi, Sh., Esfandiari, E., and Allahdadi, I. 2014. The effect of folic acid application on yield of wheat. [1]th Conference on New Finding in Environment and Agricultural Ecosystems. Theran, Iran. (In Persian)
24.Sadighi, J., Jahangiri, K., Goshtasebi, A., and Rostami, R. 2015. Effectiveness of flour fortification with iron on anemia and iron deficiency: a systematic review. Payesh., 3: 269-296. (In Persian)
25.Samadanian, F., Yahaii, M., Hassanzadeh, A., Entezari, MH., Moohebat, L., Momenbeik, F. 2014. Comparison of essential amino acid in rices consumed in Isfahan. J. Health Syst. Res., 10: 286-294. (In Persian)
26.Stakhova, L.N., Stakhov, L., and Ladygin, A. 2000. Effects of exogenous folic acid on the yield and amino acid content of the seed of *Pisum sativum* L. and *Hordeum vulgare* L. Appl. Biochem. Micro., 36: 85-89.
27.Von Wettstein, D., Gough, S., and Kannangara, CG. 1995. Chlorophyll Biosynthesis. The Plant Cell., 7: 1039-1057.
28.Winter, G., Todd, CD., Trovato, M., Forlani, G., and Funck, D. 2015. Physiological implications of arginine metabolism in plants. Front. Plant Sci., 6: 534-544.