دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی تنوع آللی ژن‌های رمزکننده گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) در بین برخی از ارقام گندم نان

محمد پرند[۱]، احد یامچی[۲]، حسن سلطانلو[۳] و خلیل زینلی نژاد[۴]

۱، ۳ و ۴- دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: yam12001@yahoo.com)
تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۷

چکیده

تعداد ۱۵ رقم گندم نان با کیفیت نانوایی خوب، متوسط و ضعیف به منظور بررسی تنوع آللی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) با استفاده از چهار جفت آغازگر انتخاب شدند. آغازگرها با در نظر گرفتن ساختار زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین و از دو سوی توالی‌های تکراری و حفاظت شده در این بخش طراحی و سنتز شدند تا بتوان افزایش یا کاهش طول واحدهای تکراری و نقش آنها را در صفت کیفیت نانوایی مورد بررسی قرار داد. در مورد تمامی آغازگرها الگوی باندی برای واحدهای قابل تکثیر مورد نظر به صورت صفر (عدم وجود نوار) و یک (وجود نوار) امتیازدهی شدند. آغازگر 15 /2A توانست ارقام دز، فلات و شیرودی را به‌عنوان ارقامی با کیفیت نانوایی ضعیف از دیگر ژنوتیپ‌ها تفکیک کند. آغازگر 15 /7A ارقام سیروان و گلستان، آغازگر 22 /7D رقم نیک‌نژاد و آغازگر 25 /5B ارقام سیروان و مروارید را از نظر کیفیت نانوایی از دیگر ارقام متمایز کرد. همچنین با استفاده از نرم افزار PopGene 1.31 متوسط تعداد آلل مشاهده شده ومتوسط تعداد آلل‌های موثر بترتیب ۲ و ۱/۲۳ و شاخص تنوع ژنی نئی برابر با ۰/۱۸و شاخص اطلاعات شانون برابر با ۰/۳۲ محاسبه گردید. برای تعیین قدرت تمایز هر نشانگر، میزان اطلاعات چند شکلی (PIC) برای هر آغازگر محاسبه شد که نشان داد که در بین آغازگرهای طراحی شده آغازگر 15 /2A از بالاترین قدرت تمایز بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی را دارا بود. آنالیز نتایج ژل‌های پلی‌آکریل‌آمید با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.2 و گروهبندی با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب جاکارد و روش UPGMA نتایج ماتریس تشابه را تایید و ارقام را در پنج گروه قرار داد بطوریکه تا حدودی توانست ارقام مورد ارزیابی را از نظر صفت کیفیت نانوایی از یکدیگر تفکیک کند. پژوهش حاضر نشان داد که طول ناحیه تکراری در ساختار LMW-GSها در کنار فاکتورهایی نظیر تعداد اسید آمینه‌های سیستئین موجود در این پروتئین‌ها، عدد کیفی فارینوگراف و سایر شاخص‌های رئولوژیکی می‌تواند دیدگاهی کلی را در مورد صفت کیفیت نانوایی فراهم کند.

واژه‌های کلیدی: گندم، کیفیت نانوایی، آغازگر اختصاصی و گلوتنین

مقدمه

گندم به‌عنوان یکی از مهمترین محصولات زراعی برای انسان، پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای را در طول دهه‌های اخیر در زمینه عملکرد، کیفیت و خصوصیات ظاهری تجربه کرده است. یکی از صفات مهم در اصلاح کیفی گندم ارزش نانوایی آن است. پرولامین‌های گلوتن (گلیادین و گلوتنین) کیفیت آرد گندم برای فرایندهای تکنولوژیکی مختلف نظیر تهیه و پخت نان را تعیین می‌کنند. ارزش نانوایی بستگی مستقیم به استحکام گلوتنین دارد (۲۱) همچنین آرد مورد استفاده برای نان بایستی دارای مقدار کافی پروتئین باشد تا خمیر بدست آمده خصوصیت کارکردی مناسبی را داشته باشد (۲۷). گلوتن گندم ترکیبی از دو خصوصیت فیزیکی است: خاصیت الاستیسیته یا کشسانی که با گلوتنین‌های پلیمری و میزان چسبندگی که با گلیادین‌های مونومری مرتبط است. پروتئین‌های گلوتنین خود از دو گروه متمایز: زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (High Molecular Wight-Glutenin Subunits) و زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین (Molecular Wight-Glutenin Subunits Low) تشکیل شده است (۱۳). زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین، از مهمترین پروتئین‌های ذخیره‌ای در گندم هستند که در مجموع تحت عنوان پرولامین‌ها شناخته می‌شوند، چرا که بخش عمده آنها را اسیدهای آمینه گلوتامین و پرولین تشکیل داده است (۶). پرولامین‌ها توسط جنین در مرحله جوانه‌زنی زودرس و رشد گیاهچه قبل از شروع فتوسنتز به عنوان ماده مغذی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در گندم پرولامین‌ها بر حسب خصوصیت پلیمریزه شدن به دو زیر گروه گلایدین‌ها و گلوتنین‌ها تقسیم می‌شوند. گلایدین‌ها پروتئین‌های مونومریکی هستند که پیوند دی‌سولفیدی از نوع داخلی ایجاد می‌کنند درحالی که گلوتنین‌ها، پروتئین‌های پلیمریکی هستند که زیر واحدهای آنها با یکدیگر پیوند دی‌سولفیدی از نوع بین مولکولی برقرار می‌کنند و البته پیوندهای درون مولکولی هم در این پروتئین‌ها دیده می‌شود (۶). گلایدین‌ها به چهار گروه تقسیم می‌شوند: آلفا، بتا (این دو گروه خصوصیات ساختاری مشابهی دارند)، گاما و امگا. HMWها و LMWها به یکدیگر پیوند می‌خورند تا پلی‌مرهای گلوتنین را ایجاد کنند (۴۰).

HMWها تنها چند مولفه را در بر می‌گیرند و به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند در حالی که LMWها شامل تعداد زیادی از پلی‌پپتیدها با ساختارهای پیچیده هستند و سازمان‌یابی ساختارها و روابط بین اجزای متعدد آنها در فرآیند کیفیت به طور کامل مشخص نشده است (۶). LMWها برای اولین بار با استفاده از روش فیلتراسیون ژل شناسایی شدند. در این فرآیند زمانی که گلایدین‌های با وزن

مولکولی بالا که بوسیله توالی پایانه‌ی آمین در ژل فیلتراسیون استفاده می‌شوند، مورد واکنش Fraction قرار می‌گیرند، علاوه بر زیرواحدهایی نظیر آلفا گلایدین، بتا گلایدین و گاما گلایدین می‌توان LMWها را نیز بدست آورد. جکسون و همکاران (۱۵) زیرواحدهای بیشتری از LMWها را گزارش کردند. بطوری که بر اساس قابلیت تحرک و جابجایی بر روی ژل SDS-PAGE سه گروه مجزا از LMWها شناسایی شدند که طبق مطالعه پین و کرفیلد (۲۹) تحت عنوان گروه‌های B، C و D معرفی شدند. بررسی‌های بیشتر نشان داد که گروه D از گلایدین‌های نوع امگای تغییر شکل یافته که دارای اسید آمینه سیستئین هستند، تشکیل شده است و شناسایی زیرواحدهای سیستئین در گلایدین‌های نوع امگا، جایی که بصورت تیپیکال فاقد این اسید آمینه هستند، اولین مشاهده از حضور زیرواحدهای شبه گلایدین در پلیمرهای گلوتنین بود (۲۲،۲۳). البته تائو و ساکاردا (۳۸) بخش‌هایی از توالی پایانه آمین نوع آلفا و گاما را در رقم گندم بهاره چینی (Chinese spring) گزارش کردند. بر اساس توالی اولین اسید آمینه پروتئین بالغ که شامل اسیدآمینه‌های سرین، متیونین و ایزولوسین هستند، سه زیر گروه از LMW ها طبقه بندی شدند که شامل LMW-s، LMW-m و LMW-i بودند و در این بین LMW-sها دارای بیشترین فراوانی در بین ژنوتیپ‌های بررسی شده بودند (۱۹،۲۳،۳۸). به دلیل همپوشانی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین با گلایدین‌ها در ژل SDS-PAGE امکان شناسایی آلل‌های بیشتر با دشواری‌هایی همراه است (۳۹). بنابراین استفاده از آغازگرهای اختصاصی می‌تواند روشی دقیق به شمار آید چرا که نواحی کدکننده LMW-GSها فاقد اینترون هستند و طراحی آغازگر بر اساس نواحی حفاظت شده می‌تواند به ارزیابی LMW-GSها از طریق واکنش PCR منجر شود (۲۰). اکثر زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) توسط ژن‌های موجود بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره یک کد می‌شوند (۲۸،۳۰). همچنین بعضی از زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین از نوع B توسط ژن‌هایی که بر روی کروموزوم شماره ۶ هستند، کد می‌شوند (۲۴). LMW-GSها نه تنها در ارقام گندم بلکه در خویشاوندان وحشی و غلات نزدیک به گندم نیز یافت می‌شوند (۶). LMWها و یا پروتئین‌های مشابه به LMWها در جنس *Elymus* (۲۶)، *Dasypyrum* (۲)، *Elytrigia* (۱۱) و *Hordeum* (۱،۱۸) گزارش شده است. LMWهای رایج توسط خانواده ژنی Glu-3 که تعداد رونوشت‌های نامشخصی دارند، کد می‌شوند. البته با استفاده از تکنیک‌هایی نظیر لکه‌گذاری ساترن تعداد رونوشت‌های ژن از ۱۰ الی ۱۵ (۱۴) تا ۳۵ الی ۴۰ (۴،۳۲) در گندم هگزاپلوئید تخمین زده شده است. اطلاعات ساختارهای ژنی کد کننده LMWها شامل بیش از ۷۰ DNAی کلون شده در بانک اطلاعاتی است که از حدود ۱۵ ژنوتیپ مختلف و عمدتا مربوط به *T. aestivum* و *T. durum* تشکیل شده است (۶). هر LMW-GS از چهار بخش ساختاری شامل یک سیگنال پپتید با طول ۲۰ اسید آمینه، پایانه آمین با طول ۱۳ اسید (که معمولا شامل اولین اسید آمینه‌ی سیستئین نیز می‌باشد)، دمین تکراری (غنی از کدون‌های گلوتامین است) و پایانه کربوکسیل تشکیل می‌شود (۶). کاسیدی و همکاران (۴) و همچنین اویدیو و ماسکی (۶) نیز پیشنهاد کردند که ناحیه‌ی پایانه کربوکسیل از سه بخش تشکیل شده است که شامل ناحیه غنی از سیستئین (با پنج واحد سیستئین)، ناحیه غنی از گلوتامین (با یک واحد سیستئین و واحدهای پشت سر هم گلوتامین) و ناحیه با توالی حفاظت شده‌ی پایانه کربوکسیل (با حداقل واحدهای سیستئین) است. طول ژن‌ها از ۹۰۹ جفت باز آلی ۱۱۶۷ جفت باز و وزن مولکولی پروتئین‌های بالغ از ۳۲ الی ۴۳ کیلو دالتون متغیر است. تعداد تکرارهای موجود در ناحیه دمین تکراری که در حدود ۱۵، ۲۲ و ۲۵ جفت باز است مسوول تنوع طول در این ناحیه به شمار می‌رود (۶). مقایسه ژن‌های آللی پیشنهاد می‌کند این تنوع که در نتیجه حذف یا مضاعف شدن واحدهای تکراری (۷) و با احتمال خیلی بالا در نتیجه کراسینگ اور نابرابر و یا لغزش در حین همانندسازی حاصل می‌شود، در نهایت در تکامل پرولامین‌ها حائز اهمیت باشد (۳۶). طول هر واحد تکراری به همراه توالی حفاظت شده همراه بین ۱۵ تا ۲۷ جفت باز متغیر است (جدول ۱). دمین تکراری همچنین مسوول خصوصیت آبدوستی LMW-GSها است.

جدول ۱- توالی‌های حفاظت شده در ناحیه تکراری ساختار LMW-GS (۶)

Table1. Conserved sequence in repetitive domain of LMW-GS structure

شماره ثبت	توالی DNA حفاظت شده نواحی تکراری در ساختار LMW-GSها	توالی اسید آمینه نواحی حفاظت شده
U86028	CCACCATTTTCACAA	PPFSQQ
AB062878	CCACCATTTTCACAGCAACAACAA	PPFSQQQQ
Y17845	CCACCATTTTCGCAACAACAACAA	PPFSQQQQ

بر اساس نحوه توزیع واحدهای سیستئین پروتئین های LMW-GS می‌توانند در سه دسته اصلی طبقه‌بندی شوند: گروهی که یک سیستئین را در دمین کوتاه پایانه آمین دارا هستند؛ گروهی که یک سیستئین را در ناحیه دمین تکراری دارند و البته در دمین پایانه آمین و گروهی که هشت سیستئین را در پایانه کربوکسیل دارند (۶). توزیع متفاوت سیستئین می‌تواند منجر به کارکردهای مختلفی شود. شناخت اندکی از تنظیم سنتز پروتئین گلوتن گندم وجود دارد. مانند سایر ژن‌های پرولامین، بیان ژن‌های LMW-GS ابتدا در سطح نسخه‌برداری توسط فاکتور نسخه‌برداری سیس بنام فاکتور ۳۰۰، جعبه آندوسپرم و یا جعبه پرولامین کنترل می‌شود (۵،۹). LMW-GSها ویژه زیرواحدهایی که توسط مکان‌های حاضر بر روی کروموزوم 1B حضور دارند، برای کیفیت نانوایی بسیار حائز اهمیت می‌باشند (۱۷). یکی از آلل‌های مهم برای تعیین خصوصیت کیفیت نانوایی، آلل LMW-2 است (۳۱). LMW-2 شامل گروهی از پلی‌پپتیدها

است که توسط مکان‌های ژنی Glu-B3 کد می‌شود. این مکان‌های ژنی به صورت ژنتیکی به مکان ژنی Gli-B1 که حاوی ژن‌های کد کننده گلایدین‌های نوع گاما و امگا است، لینک هستند.

در نهایت می‌توان گفت LMW-GS گروهی از پروتئین‌ها هستند که توانایی آنها در برقراری پیوند دی‌سولفیدی بین مولکولی به آنها اجازه می‌دهد تا در شکل گیری پلیمرهای گلوتنین شرکت کند. بررسی داده‌های حاصل از سطوح ژن و پروتئین نشان می‌دهد که توالی‌های مربوط به گلایدین‌های نوع آلفا، گاما و امگا می‌توانند به عنوان LMW-GSهای رایج تعریف شوند. مقایسه توالی، آنالیزهای بیوشیمیایی و مدل سازی مولکولی نشان می‌دهد که این LMW-GSهای رایج شامل تعداد مشخصی از اسید آمینه‌های سیستئین هستند که در برقراری پیوند دی‌سولفیدی بین مولکولی با سایر LMW-GSها و یا HMW-GSها ایفای نقش کرده و بنابراین باعث شکل گیری گلوتنین شده و بدین صورت نقش کلیدی را در کیفیت نانوایی گندم ایفا می‌کنند. در مطالعه پیش رو با توجه به اهمیت صفت کیفیت نانوایی در ارقام بومی گندم، طول ناحیه حفاظت شده در ناحیه تکراری زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین و افزایش یا کاهش طول این ناحیه بعنوان فاکتوری جدید در کنار سایر عوامل موثر در صفت کیفیت نانوایی مانند عدد فارینوگراف، رسوب زلنی، درصد گلوتن و غیره که شکل‌دهنده صفت کیفیت نانوایی یک رقم هستند، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال زراعی ۹۴-۹۵ انجام شد. در این مطالعه از ۱۵ ژنوتیپ گندم با کیفیت نانوایی خوب، متوسط و ضعیف که از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند، استفاده شد (جدول ۲).

جدول ۲- مشخصات ژنوتیپ‌های استفاده شده (۳۵)

Table 2. Specifications of genotypes used

ژنوتیپ‌ها	سال معرفی	اقلیم و شرایط کشت	میانگین وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد (کیلوگرم در هکتار)	میانگین درصد پروتئین	کیفیت نانوایی
گلستان	۱۳۶۵	گرم و مرطوب شمال	۸۳/۵	۴۵۰۰	۱۳	خوب
سیروان	۱۳۹۰	مزارع آبی معتدل	۴۵	۵۹۷۰	۱۲	خیلی خوب
پارسی	۱۳۸۸	معتدل	–	۸۵۸۱	۱۲	خیلی خوب
آزادی	۱۳۵۸	اقلیم‌های معتدل	۳۶/۵	۴۳۹۰	۱۰/۷	متوسط تا خوب
فلات	۱۳۶۹	گرمسیر و نیمه گرمسیر	۳۸	۶۲۵۰	۱۲	ضعیف
هیرمند	۱۳۷۰	گرمسیر	۳۷	۵۵۰۰	۱۰/۲	متوسط
تجن	۱۳۷۴	جلگه‌ای ساحل خزر	۳۸	۶۳۰۰	۱۲	خوب
نیک‌نژاد	۱۳۷۴	معتدل	۳۷	۶۷۰۰	۱۲/۵	خوب
اترک	۱۳۷۴	گرم جنوب	۳۵/۵	۵۸۰۰	۱۲/۵	خوب
کویر	۱۳۷۶	شور و کم آب	۳۸	۵۷۰۰	۱۰/۵	متوسط
شیرودی	۱۳۷۶	سواحل دریای خزر	۳۸/۵	۶۵۰۰	۱۰/۴	ضعیف
پیشتاز	۱۳۸۱	مناطق معتدل	۴۴/۵	۷۴۰۰	۱۱/۵	خوب
دز	۱۳۸۱	گرم جنوب	۳۸	۶۱۵۰	۱۰/۸	ضعیف
مروارید	۱۳۸۸	گرم و مرطوب شمال	۴۳	۶۱۵۲	۱۱/۷	ضعیف
بهار	۱۳۸۶	معتدل	–	۶۶۷۹	۱۰/۹۴	متوسط

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه شماره ۱ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال زراعی ۹۴-۹۵ اجرا شد. هر کرت آزمایشی در شش خط یک متری با فاصله ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند، تراکم کاشت در هر کرت ۳۰۰ دانه و سطح هر کرت یک مترمربع بود. در طول دوره‌ی رشد کودپاشی، کنترل آفات و بیماری‌ها مطابق عرف منطقه صورت گرفت. DNA ژنومی از برگ‌های تازه گندم به روش Doyle and Doyle (۸) استخراج شد. در این تحقیق توالی‌های حفاظت شده‌ای که در مطالعه اویدو و ماسکی (۶) بدست آمدند با استفاده از پایگاه Ensembl Plants و بخش مربوط به گندم مورد Blast قرار گرفته و نتایج بدست آمده از این پایگاه با استفاده از نرم‌افزار آنلاین مولتی الاین مورد هم‌ردیفی قرار گرفتند و سپس از دو سوی این توالی‌های تکراری با استفاده از نرم‌افزار الیگو۷ طراحی آغازگر صورت گرفت. در این مطالعه از ۴ جفت آغازگر اختصاصی استفاده شد که از دو طرف توالی‌های تکراری و حفاظت شده طراحی شده بود (جدول ۳).

جدول ۳– آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

Table 3. Primers used in this study

آغازگر	توالی (۵'-۳')	مکان کروموزومی	دمای اتصال (°C)
F15 /2A	GCCTGCATTGCCTCTTT	AA	60
R15 /2A	GTTTGCTGTGAACTTGCC		
F15 /7A	TGGCAGACGACAAAGAG	AA	59
R15 /7A	CATGTATGTGGAACTTGCTATG		
F22 /7D	ACGGCAAAGAGCCTG	DD	56
R22 /7D	TGAACTTGCCATGTGA		
F25 /5B	ATGGATGAGGCCGTTG	BB	58.5
R25/5B	CCAAGCTGGTTAGAATGTC		

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر حاوی ۵ میکرولیتر بافر مادری امپلیکون (2X Taq DNA Polymerase Master Mix RED)، یک میکرولیتر از هر آغازگر (با غلظت ۱۰ پیکومول در میکرولیتر) به همراه ۱۰۰ نانوگرم از DNA ژنومی انجام شد. برنامه PCR با واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه آغاز و با ۳۵ چرخه شامل مرحله واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال در دمای مطلوب هر آغازگر به مدت یک دقیقه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه ادامه یافته و مرحله پایانی با دمای بسط نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ده دقیقه انجام شد. به منظور آشکارسازی محصولات تکثیر شده با استفاده از آغازگرها، در ابتدا از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد برای تایید اولیه استفاده شد و سپس جهت افزایش قدرت جداسازی و وضوح نوارهای تکثیر شده از ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۲ درصد همراه با رنگ‌آمیزی با روش نیترات نقره استفاده شد (۳۴). افراد بر اساس الگوی نواری از قطعات DNA به صورت وجود (۱) و عدم وجود (۰) امتیازبندی شدند. ماتریس تشابه بر اساس ضریب جاکارد محاسبه شد و نمودار دندروگرام نیز بر اساس ضریب جاکارد و روش گروه‌بندی UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.2 رسم گردید. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC[1]) توسط نرم‌افزار PopGene 1.31 بدست آمد.

نتایج و بحث

آغازگرهای بکار رفته در این تحقیق برای بررسی تنوع طولی موتیف‌های حفاظت شده در ناحیه تکراری زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین طراحی شدند. همچنین با استفاده از نرم‌افزار PopGene 1.31 فراوانی آللی و تعداد آلل‌های موثر، شاخص تنوع ژنی نئی (۲۵) و شاخص اطلاعات شانون محاسبه گردید (جدول ۴). برای تعیین قدرت تمایز هر نشانگر، میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) برای هر آغازگر محاسبه شد (جدول ۵).

جدول ۴– پارامترهای تنوع ژنتیکی در ارقام مورد مطالعه با استفاده از چهار آغازگر طراحی شده

Table 4. Parameters of genetic diversity in cultivars using four primers designed

تنوع ژنی نئی		شاخص اطلاعات شانون		متوسط تعداد آلل موثر	متوسط تعداد آلل مشاهده شده
میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار		
۰/۱۸	۰/۰۸	۰/۳۲	۰/۱۱	۱/۲۳	۲

جدول ۵– میزان اطلاعات چند شکلی (PIC) برای چهار آغازگر طراحی شده

Table 5. Polymorphic information content using four primers designed

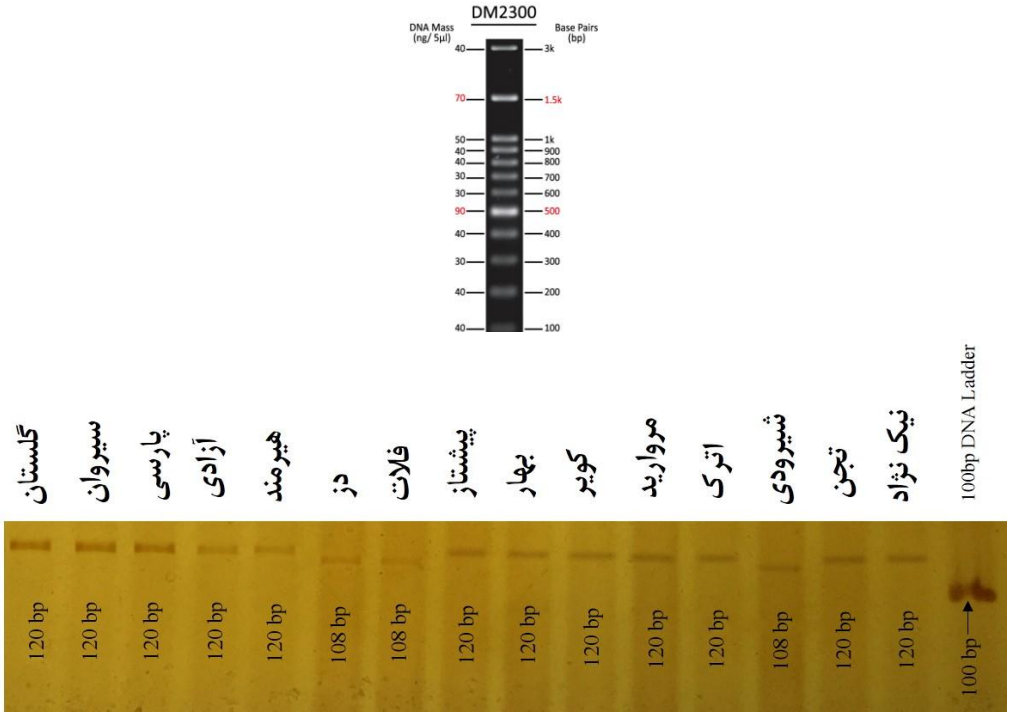
آغازگر	میزان اطلاعات چند شکلی (PIC)
15 /2A	۰/۳۴۴۳
15 /7A	۰/۲۰۴۸
22 /7D	۰/۲۳۰۸
25 /5B	۰/۲۰۴۸

میزان اطلاعات چند شکلی برای آغازگرها نشان داد که آغازگر 2A/ 15 بالاترین قدرت تمایز ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در بین آغازگرهای طراحی شده دارا بود.

تنوع آللی آغازگر 2A/ 15

این آغازگر از دو طرف موتیف ۱۵ جفت بازی و از مکان کروموزوم 2A طراحی شد. الگوی باندی بدست آمده از ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۲ درصد نشان داد که ارقام دز، فلات و شیرودی نسبت ارقام دیگر محصولی با طول کمتر را تکثیر کردند (شکل ۱). لازم به ذکر است که با توجه به گزارش موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (۳۵) این سه رقم از کیفیت نانوایی ضعیفی برخوردار هستند. بنابراین با توجه به سایر فاکتورهای فنوتیپی کنترل‌کننده صفت کیفیت نانوایی به نظر می‌رسد که این آغازگر توانسته است این سه رقم را از نظر صفت کیفیت نانوایی تشخیص دهد که البته این موضوع در حد فرضیه است و جهت اثبات این موضوع باید ارتباط بین داده‌های فنوتیپی و تنوع آللی بررسی شود. همچنین دلیل روئیت محصولات با طول کمتر می‌تواند بدلیل کوتاه‌تر شدن طول موتیف‌های تکراری باشد که می‌تواند در اثر پدیده‌های نظیر حذف و یا کراسینگ اور نابرابر رخ دهد. کاهش طول ناحیه تکراری همراه با کاهش تعداد اسید آمینه‌های گلوتامین می‌تواند باعث کاهش کیفیت نانوایی شود (۶).

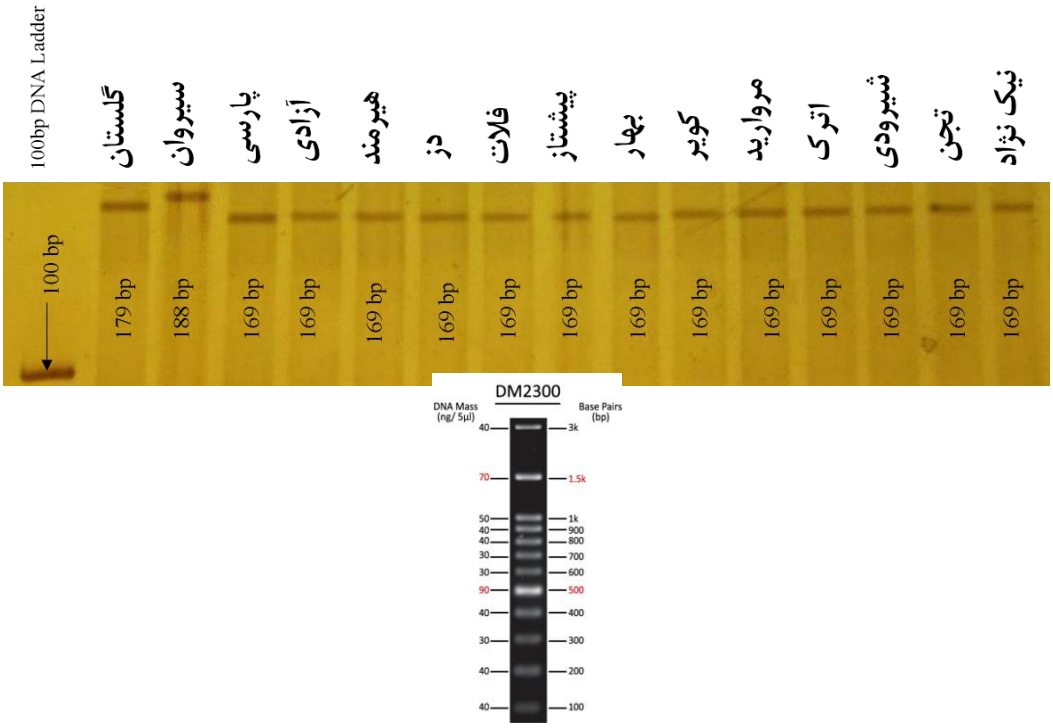
1- Polymorphic Information Content



شکل ۱- الگوی باندی حاصل از تکثیر توسط آغازگر 15 /2A (اندازه نوارها تقریبی است) وExcel Band 100 bp DNA Ladder
Figure1. Banding pattern of the amplified using 15 /2A primer (Band sizes are approximate) and Excel Band 100 bp DNA Ladder

تنوع آللی آغازگر 15 /7A

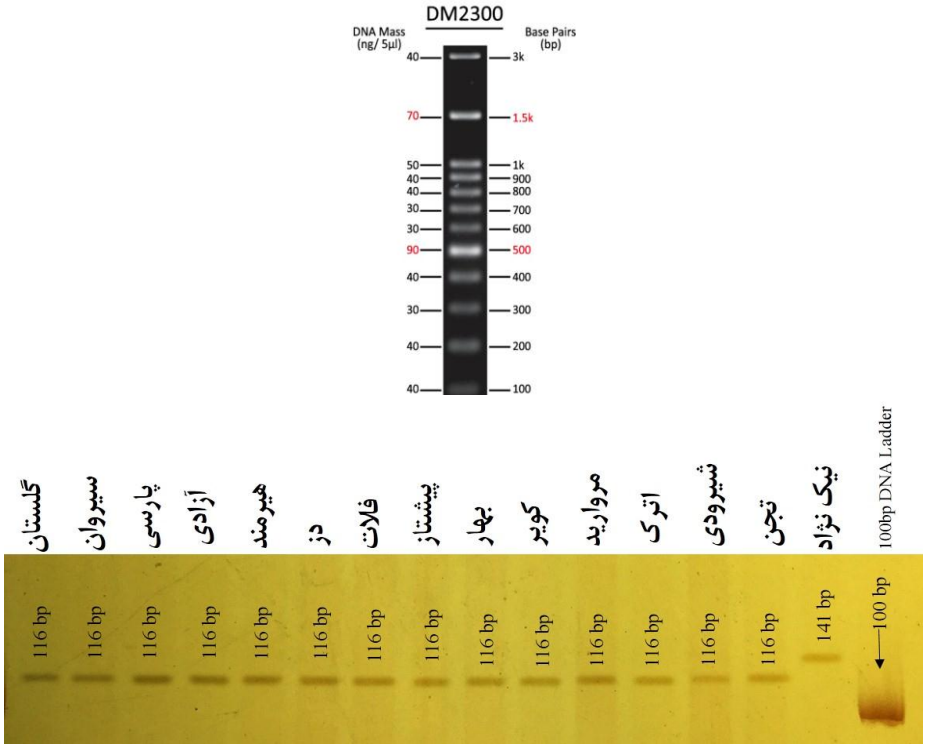
این آغازگر نیز از دو سوی موتیف ۱۵ جفت بازی و از مکان کروموزوم 7A طراحی شد. نتایج بدست آمده از ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۲ درصد نشان داد که این آغازگر توانسته است ارقام سیروان و گلستان را از دیگر ارقام متمایز کند، که با توجه به گزارش موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (۳۵) در زمره ارقام با کیفیت نانوایی خوب و خیلی خوب قرار می‌گیرند. حتی به نظر می‌رسد این آغازگر توانسته است رقم گلستان با کیفیت نانوایی خوب را از رقم سیروان با کیفیت نانوایی خیلی خوب متمایز کند (شکل ۲).



شکل ۲- الگوی باندی حاصل از تکثیر توسط آغازگر 15 /7A (اندازه نوارها تقریبی است) وExcel Band 100 bp DNA Ladder
Figure 2. Banding pattern of the amplified using 15 /7A primer (Band sizes are approximate) and Excel Band 100 bp DNA Ladder

تنوع آللی آغازگر 22 /7D

آغازگر 22 /7D از دو انتهای موتیف ۲۲ جفت بازی و از مکان کروموزوم 7D طراحی شد. الگوی باندی حاصل از تکثیر این آغازگر بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۲ درصد نشان داد که باند مربوط به رقم نیک‌نژاد، رقمی با کیفیت نانوایی خوب، در مقایسه با باندهای سایر ارقام طول بیشتری داشته و در قسمت بالاتری از ژل قرار گرفت. این آغازگر در مورد سایر ارقام هیچ تمایزی قائل نشد بطوری که باندهای مربوط به سایر ارقام دارای طول مشابهی بودند (شکل ۳).

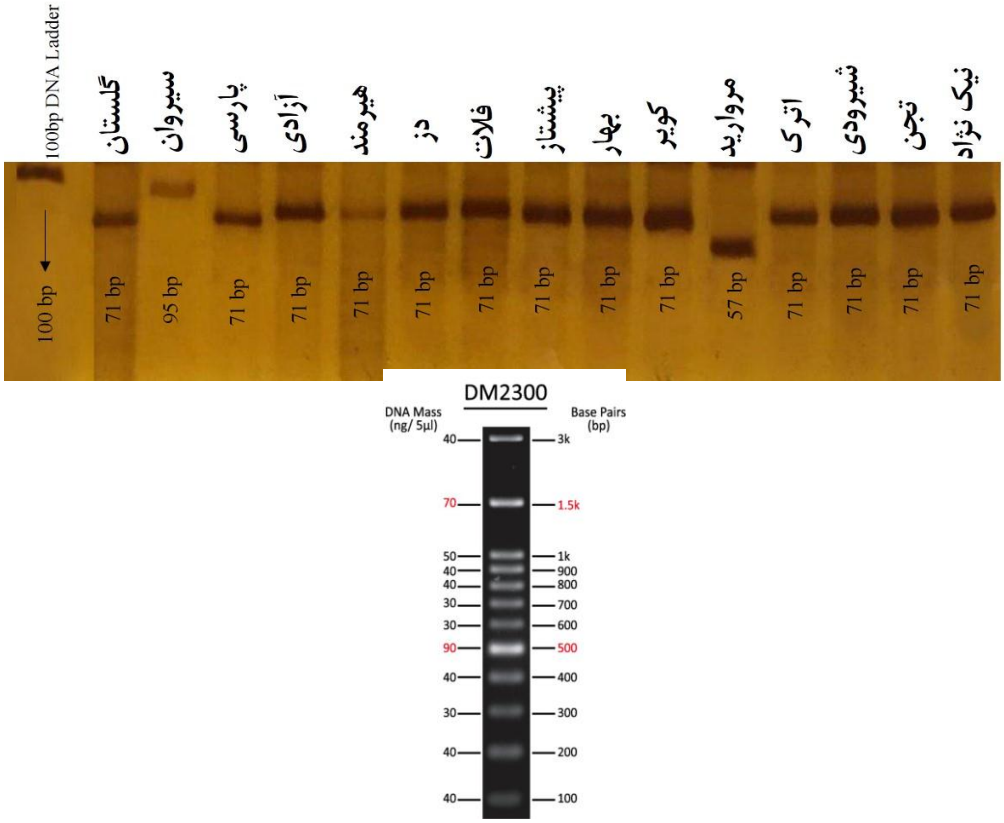


شکل ۳- الگوی باندی حاصل از تکثیر توسط آغازگر 22 /7D (اندازه نوارها تقریبی است) و Excel Band 100 bp DNA Ladder

Figure 3. Banding pattern of the amplified using 22 /7D primer (Band sizes are approximate) and Excel Band 100 bp DNA Ladder

تنوع آللی آغازگر 25 /5B

این آغازگر از دو انتهای موتیف ۲۵ جفت بازی و مکان کروموزومی 5B طراحی شد. نتایج حاصل از ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۲ درصد نشان داد که باند مربوط به رقم سیروان به‌عنوان رقمی با کیفیت نانوایی خیلی خوب بالاتر و باند مربوط به رقم مروارید به‌عنوان رقمی با کیفیت نانوایی ضعیف در مقایسه با باند سایر ارقام پایین‌تر ایستاده است. این آغازگر در مورد سایر ارقام نتوانست تمایزی را به لحاظ صفت کیفیت نانوایی قائل شود (شکل ۴).



شکل ۴- الگوی باندی حاصل از تکثیر توسط آغازگر 25 /5B (اندازه نوارها تقریبی است) و Excel Band 100 bp DNA Ladder

Figure 4. Banding pattern of the amplified using 25 /5B primer (Band sizes are approximate) and Excel Band 100 bp DNA Ladder

بزرگمهر و همکاران (۳) در تحقیقی نشان دادند که دو عامل تعداد سیستئین و طول نواحی تکراری تأثیر معنی‌داری در صفت کیفیت نانوایی دارند. همچنین ژو و همکاران (۴۰) ژن LMW جدید به نام XYGLUD3-LMW (AY263369) را از گندم نان همسانه‌سازی کردند. نتایج نشان داد که پروتئین‌های حاصل از این ژن دارای ۹ اسید آمینه سیستئین است، در حالی که در اکثر ژن‌های شناخته شده ۸ اسید آمینه سیستئین وجود دارد. آزمایش‌های تکمیلی نشان داد که این اسید آمینه سیستئین اضافی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش خصوصیات کیفی LMW شده است. در ساختار پیشنهادی توسط اویدو و ماسکی (۶) برای LMW-GSها، بخش دمین تکراری غنی از اسیدهای آمینه گلوتامین است و در انتهای '۳ توالی‌های حفاظت شده کدون‌های این اسید آمینه‌ها قرار دارند. افزایش یا کاهش طول این توالی های ۱۵ تا ۲۵ جفت بازی که در نتیجه حذف یا جانشینی واحدهای تکراری (۷) و با احتمال خیلی بالا در نتیجه کراسینگ اور نابرابر و یا لغزش در حین همانندسازی حاصل می‌شود، در نهایت در تکامل پرولامین‌ها حائز اهمیت باشد (۳۶). طول هر واحد تکراری به‌همراه توالی حفاظت شده بین ۱۵ تا ۲۷ جفت باز متغیر است (جدول ۱). در نهایت می‌توان گفت افزایش یا کاهش اسید آمینه‌های گلوتامین در نواحی تکراری می‌تواند به‌عنوان فاکتوری در بررسی کیفیت نانوایی مورد توجه قرار گیرد. اندازه‌گیری میزان پروتئین، سختی دانه، وزن هزار دانه و همچنین آزمون‌های فارینوگراف میکسوگراف، آلوگراف و اسپکتروسوکوپی انعکاسی نور مادون قرمز (NIR)، از روش‌های غیرمستقیم برای تعیین کیفیت نانوایی ارقام گندم می‌باشند (۳۶). کیفیت آرد و پخت نان در یک رقم گندم، صفتی پیچیده و تحت تأثیر عوامل متعدد محیطی و ژنتیکی است. تعادل بین ترکیبات مختلف مانند نشاسته، پروتئین، چربی‌ها، گلوتن، عدد زلنی، آب و تداخل بین این ترکیبات تعیین کننده کیفیت یک رقم هستند (۱۶). بررسی فاکتورهایی نظیر آزمون‌های فارینوگراف، آلوگراف، میکسوگراف و سایر روش‌های غیر مستقیم تعیین کیفیت نانوایی نشان می‌دهد که برآیند این فاکتورها در خوب و یا ضعیف بودن صفت کیفیت نانوایی تأثیرگذار است و نمی‌توان با تکیه بر یک فاکتور به تنهایی قضاوتی در مورد صفت کیفیت نانوایی یک رقم انجام داد. بنابراین به نظر می‌رسد که فاکتور طول نواحی تکراری در ساختار زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین می‌تواند در کنار سایر فاکتورهای بعنوان یکی فاکتورهای مهم مطرح شود.

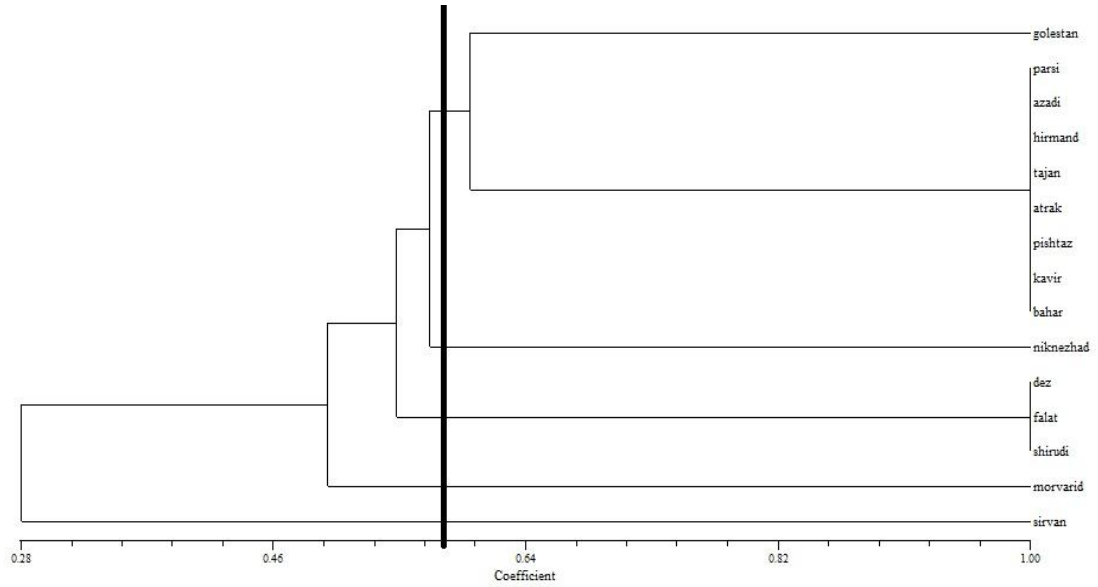
آنالیز نتایج ژل‌های پلی‌آکریل‌آمید با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.2 و گروه‌بندی با استفاده از روش تجزیه

خوشه‌ای بر اساس ضریب جاکارد (بدلیل بالاترین ضریب کوفنتیک) و روش UPGMA نتایج ماتریس تشابه را تایید و ارقام را در پنج گروه قرار داد (شکل ۵). برای تعیین خط برش از روش 2D پلات استفاده شد. در گروه اول ارقام گلستان، پارسی، آزادی، هیرمند، تجن، اترک، پیشتاز، کویر و بهار قرار گرفتند که مخلوطی از ارقام با کیفیت نانوایی متوسط و خوب بودند و در گروه دوم رقم نیک‌نژاد بعنوان رقمی با کیفیت نانوایی خوب به تنهایی قرار گرفت. همچنین در گروه سوم سه رقم دز، فلات و شیرودی که در گزارش موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (۳۵) بعنوان ارقامی با کیفیت نانوایی ضعیف معرفی شدند، در کنار هم قرار گرفتند. در نهایت رقم مروارید با کیفیت نانوایی ضعیف و رقم سیروان با کیفیت نانوایی خیلی خوب بترتیب در گروه‌های چهارم و پنجم قرار گرفتند. به نظر می‌رسد در مجموع چهار آغازگر به کارگرفته شده در این تحقیق توانسته است بعنوان فاکتوری ارزشمند در ارزیابی صفت کیفیت نانوایی، پانزده رقم استفاده شده را در گروه‌های متوسط و خوب، ضعیف و خیلی خوب دسته بندی کند. همچنین نتایج ماتریس تشابه به روش جاکارد در جدول ۶ آمده است. بیشترین و کمترین ضریب تشابه به ترتیب برابر با یک و ۰/۱۴ بود.

جدول۶- ماتریس تشابه به روش جاکارد

Table 6. Jaccard similarity matrix method

	گلستان	سیروان	پارسی	آزادی	هیرمند	دز	فلات	پیشتاز	بهار	کویر	مروارید	اترک	شیرودی	تجن	نیکنژاد
گلستان	۱														
سیروان	۰/۳۴	۱													
پارسی	۰/۶	۰/۳۴	۱												
آزادی	۰/۶	۰/۳۴	۱	۱											
هیرمند	۰/۶	۰/۳۴	۱	۱	۱										
دز	۰/۳۴	۰/۱۴	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۱									
فلات	۰/۳۴	۰/۱۴	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۱	۱								
پیشتاز	۰/۶	۰/۳۴	۱	۱	۱	۰/۶	۰/۶	۱							
بهار	۰/۶	۰/۳۴	۱	۱	۱	۰/۶	۰/۶	۱	۱						
کویر	۰/۶	۰/۳۴	۱	۱	۱	۰/۶	۰/۶	۱	۱	۱					
مروارید	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۱				
اترک	۰/۶	۰/۳۴	۱	۱	۱	۰/۶	۰/۶	۱	۱	۱	۰/۶	۱			
شیرودی	۰/۳۴	۰/۱۴	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۱	۱	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۳۴	۰/۶	۱		
تجن	۰/۶	۰/۳۴	۱	۱	۱	۰/۶	۰/۶	۱	۱	۱	۰/۶	۱	۰/۶	۱	
نیک‌نژاد	۰/۳۴	۰/۱۴	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۳۴	۰/۶	۰/۳۴	۰/۶	۱



شکل ۵- دندروگرام پانزده رقم گندم نان بر اساس ضریب Jaccard با روش UPGMA

Figure 5. Dendrogram based on Jaccard coefficient using UPGMA method

قمری و همکاران (۱۰) در تحقیقی رابطه و همبستگی بین عدد کیفی فارینوگراف با خواص کیفی و نانوایی ۱۳ رقم از گندم‌های شاخص ایرانی با ارزش نانوایی مختلف را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد میزان همبستگی‌های بدست آمده میان عدد کیفی فارینوگراف با کلیه فاکتورهای مورد بررسی به جز میزان پروتئین، در سطح احتمال مطلوب معنی‌دار است. از این میان بیشترین میزان همبستگی با ثبات خمیر به میزان ۰/۸۳۵ به دست آمد. از میان واریته‌های گندم مورد آزمون، رقم الموت کم‌ترین و بزوستایا بیشترین میزان عدد کیفی فارینوگراف و همچنین

ارزش نانوایی را به خود اختصاص دادند. این پژوهش نشان داد که با استفاده از شاخص عدد کیفی فارینوگراف به عنوان فاکتوری مهم در کیفیت نانوایی می‌توان گندم ها را از لحاظ کیفیت با استفاده از یک عدد واحد طبقه‌بندی کرد. صادقی و همکاران (۳۳) در تحقیقی به بررسی روابط علت و معلولی خواص وابسته به کیفیت نانوایی گندم نان پرداختند. در این مطالعه تعداد ۱۴ صفت وابسته به خواص نانوایی گندم مورد ارزیابی قرار گرفتند و نتیجه تجزیه واریانس ساده صفات اندازه‌گیری شده نشان از معنی‌دار بودن آنها در سطح یک درصد بود. در بررسی همبستگی خواص وابسته به کیفیت نانوایی صفات درصد پروتئین دانه، سختی دانه، درصد گلوتن تر، حجم نان، درصد جذب آب آرد و حجم رسوب زلنی و SDS همبستگی‌های مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد نشان دادند. کیفیت آرد و پخت نان در یک رقم گندم، صفتی پیچیده و تحت تأثیر عوامل متعدد محیطی و ژنتیکی است. تعادل بین ترکیبات مختلف مانند نشاسته، پروتئین، چربی‌ها، گلوتن، عدد زلنی، آب و تداخل بین این ترکیبات تعیین کننده کیفیت یک رقم هستند (۱۶). بیشتر از ۱۰۰ توالی از ژن‌ها، ژن‌های جزئی (Partial) و ژن‌های کاذب از خانواده LMW-GSها از چندین رقم گندم نان مورد همسانه‌سازی و توالی یابی قرار گرفته‌اند (۱۲). پژوهش حاضر نشان داد که طول ناحیه تکراری در ساختار LMW-GSها در کنار فاکتورهایی نظیر تعداد اسید آمینه‌های سیستئین موجود در این پروتئین‌ها، عدد کیفی فارینوگراف و سایر شاخص‌های رئولوژیکی می‌تواند قضاوت و دیدگاهی کلی را در مورد صفت کیفیت نانوایی فراهم کند.

منابع

1. Atienza, S.G., J.B. Alvarez, A.M. Villegas, M.J. Gimenez, M.C. Ramirez, A. Martin and L.M. Martin. 2002. Variation for the low-molecular weight glutenin subunits in a collection of *Hordeum chilense*. Euphytica, 128(2): 269-277.
2. Blanco, A., P. Resta, R. Simeone, S. Parmar, P.R. Shewry, P. Sabelli and D. Lafiandra. 1991. Chromosomal location of seed storage protein genes in the genome of *Dasypyrum villosum*. Theoretical and Applied Genetics, 82(3): 358-362.
3. Bozorgmehr, A., J. Ahmadi, F. Shahinnia, Kh. Razavi, G. Njafian and T. Lohrasebi. 2014. Evaluation of allelic variation for low molecular weight glutenin subunits using DNA specific markers in wheat landraces. Journal of modern genetics, 9(4): 439-450 (In Persian).
4. Cassidy, B.G., J. Dvorak and O.D. Anderson. 1998. The wheat low molecular weight glutenin genes: characterization of six new genes and progress in understanding gene family structure. Theoretical and Applied Genetics, 96(6): 743-750.
5. Colot, V., L.S. Robert, T.A. Kavanagh, M.W. Bevan and R.D. Thompson. 1987. Localization of sequences in wheat endosperm protein genes which confer tissue-specific expression in tobacco. The European Molecular Biology Organization Journal, 6(12): 3559-3564.
6. D'ovidio, R. and S.M. Masci. 2004. The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. Journal of Cereal Science, 39(1): 321-339.
7. D'Ovidio, R., C. Marchitelli, L. Ercoli Cardelli and E. Porceddu. 1999. Sequence similarity between allelic Glu-B3 genes related to quality properties of durum wheat. Theoretical and Applied Genetics, 98(3-4): 455–461.
8. Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities offresh leaf tissue. Photochemistry Bulletin, 19(1): 11-15.
9. Forde, B.G., A. Heyworth, J. Pywell, M. Kreis. 1985. Nucleotide sequence of a B1 hordein gene and the identification of possible upstream regulatory elements in endosperm storage protein genes from barley, wheat and maize. Nucleic Acids Research, 13(20): 7327-7339.
10. Ghomri, M., H. Peyghambardoost and K. Reshvekarim. 2009. Application of Farinograph quality number to check the quality of wheat bread. Journal of Food Science and Technology, 6(2): 23-33.
11. Gupta, R.B. and K.W. Shephard. 1990. Two-step one-dimensional SDSPAGE analysis of LMW subunits of glutelin: 1. Variation and Genetic control of the subunits in species related to wheat. Theoretical and Applied Genetics, 80(1): 65–74.
12. Hai, L., Y. MW, Z. HY, B. Bernard, N. Eviatar and L.Z. You. 2005. Classification of Wheat low molecular weight glutenin subunits genes and its chromosome assignment by developing LMW-GS group specific primers. Theoretical and Applied Genetics, 111(7): 1251-1259.
13. Halajian, M. and B. Naserian. 2007. Review and compare amino acid sequences x and y types glutenin subunits loci 1 D controller bread quality wheat. 12th Iranian Biotechnology Conference, 1-8 pp., Tehran, Iran.
14. Harberd, N.P., D. Bartels and R.D. Thompson. 1985. Analysis of the gliadin multigene loci in bread wheat using nullisomic-tetrasomic lines. Molecular and General Genetics, 198(2): 234-242.
15. Jackson, E.A., L.M. Holt and P.I. Payne. 1983. Characterisation of high molecular weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localisation of their controlling genes. Theoretical and Applied Genetics, 66(1): 29-37.
16. Johansson, E., G. Svensson and W.K. Heneen. 1998. Genotype and environmental effect on factors influencing bread-making quality. 9th Wheat Genetics symposium, 175-177 pp., Paris, France.
17. Josephides, C.M., L.R. Joppa, V.L. Youngs. 1987. Effect of chromosome 1B on gluten strength and other characteristics of durum wheat. Crop Science, 27(2): 212–216.
18. Ladogina, M.P., A.A. Pomortsev, V.P. Netsvetaev, A.A. Sozinov. 1989. Identification of three loci for low-molecular-weight glutenin subunits in barley *Hordeum vulgare* L. Genetika, 25(1): 1818-1826.

19. Lew, E.J.L., D.D. Kuzmicky and D.D. Kasarda. 1992. Characterization of low-molecular-weight glutenin subunits by reversed-phase high performance liquid chromatography, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, and N-terminal amino acid sequencing. Cereal Chemistry, 69(5): 508-515.
20. Li, W., Z. Gao, Y.M. Wei, Z.E. Pu, G.Y. Chen, Y.X. Liu, H.P. Chen, X.J. Lan and Y.L. Zheng. 2012. Genetic variations of m-type LMW-GS genes and their associations with dough quality in *Triticum turgidum* ssp. Turgidum landraces from China. African Journal of Agricultural Research, 7(13): 2025-2033.
21. Martinek, P., M. Vinterova, I. Buresova and T. Vyhnanek. 2008. Agronomic and quality characteristics of triticale (X Triticosecale Wittmack) with HMW glutenin subunits 5+10. Journal of Cereal Science, 47(1): 68-78.
22. Masci, S., D. Lafiandra, E. Porceddu, E.J.L. Lew, H.P. Tao and D.D. Kasarda. 1993. D-glutenin subunits: N-terminal sequences and evidence for the presence of cysteine. Cereal Chemistry, 70(5): 581-585.
23. Masci, S., E.J. Lew, D. Lafiandra, E. Porceddu and D.D. Kasarda. 1995. Characterization of low-molecular-weight glutenin subunits in durum wheat by RP-HPLC and N-terminal sequencing. Cereal Chemistry, 72(1): 100-104.
24. Masci, S., L. Rovelli, D.D. Kasarda, W.H. Vensel and D. Lafiandra. 2002. Characterisation and chromosomal localization of C-type low molecular- weight glutenin subunits in the bread wheat cultivar Chinese Spring. Theoretical and Applied Genetics, 104(2-3): 422-428.
25. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 70(12): 3321-3323.
26. Obukhova, L.V., G.V. Generalova, A.V. Agafonov, V.P. Kumarev, N.A. Popova and V.V. Gulevich. 1997. A comparative molecular genetic study of glutelins in wheat and Elymus. Genetika, 33(8): 1001-1004.
27. Pahlevani, S., A. Izanloo, S. Parsa and M.GH. Ghaderi. 2016. Association between grain quality traits and SSR molecular markers in some bread wheat genotypes. Journal of Crop Breeding. 8(19): 25-36 (In Persian).
28. Payne, P.I., E.A. Jackson and L.M. Holt. 1984. The association between gliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties. A direct causal effect on the result of genetic linkage. Journal of Cereal Science, 2(2): 73-81.
29. Payne, P.I and K.G. Corfield. 1979. Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. Planta, 145(1): 83-88.
30. Payne, P.I., L.M. Holt, M.G Jarvis and E.A. Jackson. 1985. Two-dimensional fractionation of the endosperm proteins of bread wheat (*Triticum aestivum*): biochemical and genetic studies. Cereal Chemistry, 62(5): 319–326.
31. Pena, R.J., J. Zarco-Hernandez, A. Amaya-Celis and A. Mujeeb-Kazi. 1994. Relationships between chromosome 1B-encoded glutenin subunit compositions and bread-making quality characteristics of some durum wheat (*Triticum turgidum*) cultivars. Journal of Cereal Science, 19(3): 243-249.
32. Sabelli, P. and P.R. Shewry. 1991. Characterization and organization of gene families at the Gli-1 loci of bread and durum wheat. Theoretical and Applied Genetics, 83(2): 428-434.
33. Sadeghi, F. and H. Dehghani. 2016. Study of correlation coefficients and factors analysis of bread making quality attributes in bread wheat. Journal of Crop Breeding, 8(19): 1-8 (In Persian).
34. Sambrook, J. and D. Russell. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edn. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
35. Seed and Plant Improvement Institute. 2015. Introduced cultivars food security and health, volume 1. Agricultural Extension and Education Research Organization (In Persian).
36. Shewry, P.R., N.G. Halford and A.S. Tatham. 1989. The high molecular weight subunits of wheat, barley and rye. Genetics, Molecular Biology, Chemistry and Role in Wheat Gluten Structure and Functionality, Oxford Survey Plant Molecular and Cellular Biology, vol. 6. University Press, New York, pp: 163-219.
37. Sissons, M.J., B. Osborne and S. Sissons. 2006. Application of near infrared reflectance spectroscopy to a durum wheat breeding programme. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 14(1): 17-25.
38. Tao, H.P. and D.D. Kasarda. 1989. Two-dimensional gel mapping and Nterminal sequencing of LMW-glutenin subunits. Journal of Experimental Botany, 40(218): 1015-1020.
39. Wang L., X. Zhao, Z. He and X. Xia. 2008. Characterization of low molecular weight glutenin subunit genes at Glu-B3 and GluD3 loci and development of functional markers in common wheat. In: Proceedings of the 11th International Wheat Genetics Symposium. 154-166 pp., Sydney, Australia.
40. Wrigley, C.W. 1996. Giant proteins with flour power. Nature, 381(6585): 738-739.
41. Xu H., R.J. Wang, X. Shen, Y.L. Zhao, G.L. Sun, H.X. Zhao and A.G. Guo. 2006. Functional properties of a new low molecular- weight glutenin subunit gene from a bread wheat cultivar. Theoretical and Applied Genetics, 113(7): 1295-1303.

Study of Allelic Diversity of Genes Encoding Low Molecular Weight Glutenin Subunit (LMW-GS) In Some Bread Wheat Cultivars

Mohammad Parand[1], Ahad Yamchi[2], Hassan Soltanloo[3] and Khalil Zaynalinejad[4]

1, 3 and 4- PhD Student in Nuclear Agriculture, Associate Professor and Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2- Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
(Corresponding author, yam12001@yahoo.com)
Received: April 19, 2017 Accepted: June 7, 2017

Abstract

In order to study on allelic diversity of low-molecular-weight glutenin subunit (LMW-GS) 15 bread wheat cultivars with good, average and poor baking qualities were selected using four primers. The increase and reduce of repetitive units' length were examined through designing and synthesizing of primers based on the glutenin subunits structure with low molecular weight and both sides of repetitive sequences. For all primers, the banding patterns of reproducible units were scored based on 0 and 1. Primer 15/2A differentiated Dez, Falat and Shirudi as poor quality cultivars. The cultivars of Sirvan and Golestan by primer 15/7A, Niknezhad by 22/7D and Sirvan and Morvarid by 25/5B were differentiated for baking quality. Using PopGene 1.31 software, the average number of observed and effective allells, Nei gene variation index and Shannon information index was calculated as 2, 1.23, 0.18 and 0.32, respectively. Further, in order to determine the differentiation power of the primers, polymorphic information content (PIC) were calculated for each primer and primer 15/2A showed the highest PIC. Using the results of akrylamide gel and cluster analysis by NTSYS-pc 2.2 software based on Jaccard coefficient and UPGMA method, the similarity matrix results was confirmed and the cultivars were classified in 5 clusters related to baking quality trait. Present study revealed that repetitive unit length in LMW-GS as well as the factors such as the cysteine amino acids number of this proteins, Pharinograf quality number and other reologic indexes can provide general insights related to backing quality trait.

Keywords: Wheat Bread, Quality Bakery, Specific primer and Glutenin