

## تنوع اللی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین در مکان‌های *Glu-D3* و *Glu-B3*، *Glu-A3* در گندم‌های نان بومی بهاره ایرانی

### Allelic diversity of low molecular weight glutenin subunit at *Glu-A3*, *Glu-B3* and *Glu-D3* loci in Iranian spring bread wheat landraces

فاطمه شریعت<sup>۱</sup>، سید ابوالقاسم محمدی<sup>۲</sup>، مجید نوروزی<sup>۳</sup> و مصطفی ولی‌زاده<sup>۴</sup>

#### چکیده

شریعت، ف. س. ا. محمدی، م. نوروزی و م. ولی‌زاده. ۱۳۹۴. تنوع اللی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین در مکان‌های *Glu-A3*، *Glu-B3* و *Glu-D3* در گندم‌های نان بومی بهاره ایرانی. مجله علوم زراعی ایران. ۱۷(۱): ۸۷-۷۴.

در برنامه اصلاح گندم، کیفیت نانوائی یکی از اولویتهای مهم بوده و اصلاح ارقام پرمحصول با کیفیت نانوائی بالا بسیار حائز اهمیت است. در آزمایش حاضر، تنوع اللی ژن‌های رمز کننده گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) در ۱۵۴ گندم نان بهاره بومی ایرانی و رقم بهار چینی (Chinese Spring) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گروه مورد بررسی قرار گرفتند. برای مکان‌های *Glu-D3* و *Glu-B3*، *Glu-A3* به ترتیب ۱۲، ۲ و ۹ الل تکثیر شدند. در مکان ژنی *Glu-A3*، با استفاده از دو جفت آغازگر *Glu3A.2* و *Glu3A.3* به ترتیب ژن‌های زیرگروه رمز کننده پروتئین‌هایی با توالی انتهایی آمینی -MDTSCIP- و -METSCIP- تکثیر گردیدند. قطعه ۷۰۰ جفت بازی با ۴۵/۳ درصد و قطعه ۷۴۲ جفت بازی با ۰/۲ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را داشتند. برای مکان ژنی *Glu-B3*، براساس جفت آغازگر *Glu3B.2* طراحی شده براساس ژن‌های زیرگروه رمز کننده پروتئین‌هایی با توالی انتهایی آمینی -METSHIPG-، دو قطعه ۴۴۰ و ۴۲۱ جفت بازی با فراوانی ۷۳/۲ درصد و ۲۶/۸ درصد تکثیر شدند. جفت آغازگرهای *Glu3D.2*، *Glu3D.3* و *Glu3D.4* طراحی شده به ترتیب بر اساس ژن‌های زیرگروه رمز کننده پروتئین‌هایی با توالی انتهایی آمینی -METSrv-، -METCIP- و -METSCIP- جهت تکثیر مکان *Glu-D3* استفاده شده و الل ۷۰۰ جفت بازی با ۳۴ درصد و الل ۵۸۹ جفت بازی با ۰/۷ درصد بیشترین و کمترین فراوانی را در این جایگاه داشتند. میزان اطلاعات چندشکلی از ۰/۰۹ تا ۰/۷۲ با میانگین ۰/۲۲ و تنوع ژنی یا هتروزیگوتی مورد انتظار از ۰/۱ تا ۰/۷۶ با متوسط ۰/۲۴ متغیر بود. برای بررسی رابطه تنوع اللی ژن‌های LMW-GS گندم‌های بهاره ایران و مناطق آب و هوایی کشور، تجزیه واریانس مولکولی انجام شد. نتایج تجزیه واریانس مولکولی داده‌های حاصل از آغازگرهای اختصاصی LMW-GS، نشان داد که واریانس درون و بین گروهی به ترتیب ۸۷ و ۱۳ درصد واریانس کل مولکولی را تبیین کردند.

واژه‌های کلیدی: آغازگرهای اختصاصی گروه، تنوع ژنی، گندم نان و مکان ژنی.

## مقدمه

در برنامه اصلاح گندم نان، کیفیت نانوائی یکی از اولویت‌های مهم بوده و ارقام جدید معرفی شده باید دارای کیفیت نانوائی قابل قبول باشند. تنوع محصولات نهایی که گندم در آنها استفاده می‌شود، به تولید ارقام با دامنه وسیعی از خصوصیات که کیفیت دانه را تحت تاثیر قرار می‌دهند، نیاز دارد. شناسایی خصوصیات کیفی که مورد نظر بازار گندم است، برای طراحی برنامه به‌نژادی به منظور تولید ارقامی که بالاترین استانداردهای کیفیت برای بازار را داشته باشند، ضروری می‌باشد (Arzani, 2001).

زیرواحد گلوٲتین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) و زیرواحد گلوٲتین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS) اجزای مهم کمپلکس گلوٲتین گندم هستند. این پروٲتین‌ها توسط خانواده ژنی با تنوع بالا رمز می‌شوند (Gale, 2005). مکان‌های ژنی رمزکننده زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی پایین شناسایی شده در بازوی کوتاه گروه کروموزومی یک شامل *Glu-A3* در *AS1*، *Glu-B3* در *BS1* و *Glu-D3* در *DS1* می‌باشند (Singh and Shepherd, 1985). ژو و همکاران (Xu et al., 2006) گزارش کردند که LMW-GS در تشکیل پلی‌مرهای بزرگ گلوٲتین و افزایش کشسانی خمیر نقش دارد. به دلیل اهمیت LMW-GS در کیفیت آرد و مشکلاتی که در شناسایی آنها از طریق روش‌های موجود وجود دارد، طراحی و ایجاد نشانگرهای اختصاصی برای شناسایی ال‌های مختلف LMW-GS ضروری است (Gale, 2005). استفاده از آغازگرهای اختصاصی، روشی ساده و دقیق بوده و شناسایی ال‌ها را در هر مرحله از رشد گندم میسر می‌سازد (Si et al., 2012).

کلیه فرآورده‌های حاصل از آرد گندم نیازمند خمیری با کشش پذیری بالا می‌باشند، بنابراین اکثر اصلاح‌کنندگان به دنبال ارقام اصلاحی حاوی ال‌هایی از گلوٲتین با وزن مولکولی پایین می‌باشند

و این موضوع به عنوان یک راهکار عمومی مورد پذیرش واقع شده است. بر اساس داده‌های موجود در بانک اطلاعاتی NCBI، تعداد کل ژن‌های شناسایی شده برای LMW-GS تاکنون ۲۲۵ می‌باشد. اطلاعات مرتبط با ساختار این ژن‌ها بر اساس مشخصات بیش از ۷۰ همسانه cDNA از ژن‌های LMW-GS گزارش شده در بانک اطلاعات، به دست آمده است (D'Ovidio and Masci, 2004). وان کمپنهاوت و همکاران (Van Campenhout et al., 1995) بر اساس داده‌های حاصل از توالی‌یابی DNA، سه جفت آغازگر اختصاصی بر اساس ژنوم گندم بهار چینی (Chinese Spring) برای شناسایی و تکثیر ژن‌های رمزکننده زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی پایین طراحی و جایگاه کروموزومی سه ژن رمزکننده LMW-GS را شناسایی کردند. آنها گزارش کردند که استفاده از این آغازگرها می‌تواند در تفکیک ارقام گندم با کیفیت نانوائی متفاوت موثر باشد. لانگ و همکاران (Long et al., 2005) ۶۹ ژن شناخته شده رمزکننده گلوٲتین‌های با وزن مولکولی پایین گندم را بر پایه نتایج حاصل از توالی‌انتهای آمینی آنها به نه گروه تقسیم و برای هر گروه آغازگرهای اختصاصی طراحی کردند. بر اساس تجزیه فیلوژنتیکی ۶۹ ژن رمزکننده LMW-GS، ۳۰ ژن به مکان ژنی *Glu-A3*، ۱۷ ژن به مکان ژنی *Glu-B3* و ۲۲ ژن به مکان ژنی *Glu-D3* منتسب شدند.

تاناکا و همکاران (Tanaka et al., 2005) در بررسی تنوع ژنی زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی پایین در ۲۳۳ رقم گندم نان آسیایی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، چهار ال برای مکان *Glu-A3*، چهار ال برای مکان *Glu-B3* و یک ال برای مکان *Glu-D3* شناسایی کردند. در مطالعه تنوع الی زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی پایین در ۶۲ رقم تجاری گندم نان با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، تنوع قابل ملاحظه‌ای در ارقام گندم نان ایران گزارش شده است

شد. برای استخراج DNA ژنومی، بذره‌های ژنوتیپ‌های گندم در گلدان‌های پلاستیکی کشت شده و در مرحله ۳-۴ برگ‌گی، نمونه‌های برگ‌گی از ۱۰ بوته برای هر ژنوتیپ برداشت شد. نمونه‌های برداشت شده در نیتروژن مایع منجمد و به آزمایشگاه منتقل و برای استخراج DNA و استفاده طولانی مدت در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. استخراج DNA ژنومی به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1984) انجام شد. کیفیت و کمیت نمونه‌های DNA با استفاده از الکتروفورز ژل ۰/۸ درصد آگارز و اسپکتروفوتومتری تعیین شد.

تکثیر قطعات با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های رمزکننده گلوتن با وزن مولکولی پایین در حجم ۱۰ میکرولیتر با انجام شد که شامل ۰/۱۵ میکرولیتر آنزیم DNA polymerase Taq (با غلظت ۵ واحد در میکرولیتر)، ۰/۲ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدها (با غلظت ۱۰۰ میلی مولار)، ۰/۴ میکرولیتر کلرید منیزیم (با غلظت ۱۰۰ میلی مولار)، یک میکرولیتر بافر PCR (با غلظت ۱۰ برابر)، ۰/۵ میکرولیتر از هر آغازگر پیش رو و آغازگر پس رو (با غلظت ۱۰ پیکومول در میکرولیتر)، دو میکرولیتر DNA ژنومی (با غلظت ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر) و ۵/۲۵ میکرولیتر آب دیونیزه بود. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، ۳۵ چرخه با واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای اختصاصی به مدت یک دقیقه و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و نهایتاً یک چرخه بسط نهایی به مدت هفت دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بودند. اطلاعات مربوط به نام، مکان کروموزومی، توالی و دمای اتصال آغازگرها در جدول ۲ ارائه شده است. جداسازی محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید چهار درصد و در دستگاه الکتروفورز Real time gel system

(Hoseinian *et al.*, 2010). تنهائیان و همکاران (Tanhaiyan *et al.*, 2009) با بررسی تنوع اللی مکان ژنی *Glu-B3* در ارقام گندم زراعی ایران با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی طراحی شده توسط لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2005) شش ال به طول ۵۵۰-۴۵۰ جفت باز گزارش نمودند. ارتباط بین تنوع اللی در *Glu-B3* با پارامترهای مربوط به کیفیت نانویی در این تحقیق، نشان داد که آغازگر اختصاصی قادر به شناسایی تنوع در مکان ژنی *Glu-B3* بوده و بین حضور الگوی بانوی خاص و بعضی صفات مرتبط با کیفیت نانویی همبستگی وجود دارد.

با توجه به اهمیت کیفیت نانویی گندم به عنوان یکی از اولویت‌های اصلاحی مهم در طراحی برنامه به‌نژادی و با توجه به احتمال حضور ال‌های مفید و موثر در افزایش کیفیت نانویی در توده‌های بومی گندم نان، اهداف این تحقیق عبارت بودند از:

- بررسی تنوع اللی ژن‌های LMW-GS در ۱۵۴ گندم نان بهاره بومی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گروه مربوط به مکان ژنی *Glu-B3*، *Glu-A3* و *Glu-D3*.

- شناسایی تعداد ال‌های مختلف در هر مکان ژنی و تعیین طول تقریبی و فراوانی آنها  
- گروه‌بندی توده‌های بومی گندم بهاره ایران براساس تنوع اللی ژن‌های رمزکننده LMW-GS

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در آزمایش حاضر متشکل از ۱۵۴ توده گندم بومی ایران با عادت رشدی بهاره جمع‌آوری شده از نقاط مختلف کشور بود که از بانک ژن مرکز بین‌المللی تحقیقات ذرت و گندم (CIMMYT) دریافت شدند. از گندم رقم بهار چینی (Chinese Spring) نیز به عنوان استاندارد استفاده شد (جدول ۱). این پژوهش در سال ۱۳۹۰ و در آزمایشگاه ژنومیکس و اصلاح نباتات مولکولی دانشگاه تبریز اجرا

"تنوع الی زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی..."

جدول ۱- اسامی ژنوتیپ‌های گندم مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Wheat genotype names

ردیف Number	Erea	منطقه	'GID	ردیف Number	Erea	منطقه	'GID	ردیف Number	Erea	منطقه	'GID
1	Sanandaj1	سنندج-۱	187462	53	Birjand9	بیرجند-۹	188166	105	Sabzvar18	سیزوار-۱۸	373777
2	Kermanshah1	کرمانشاه-۱	187469	54	Arak2	اراک-۲	188230	106	Yazd7	یزد-۷	373778
3	Gazvin1	قزوین-۱	187472	55	Gilane-Gharb4	گیلان غرب-۴	188238	107	Ghoochan13	قوچان-۱۳	373795
4	Shah-Abad1	اسلام آباد غرب-۱	187475	56	Gazvin8	قزوین-۸	188239	108	Tabas4	طبس-۴	373808
5	Kerend1	کرد-۱	187481	57	Gorgan2	گرگان-۲	188243	109	Tabas5	طبس-۵	2436888
6	Saveh1	ساوه-۱	187485	58	Sanandaj4	سنندج-۴	188246	110	Esfahan16	اصفهان-۱۶	373676
7	Gazvin2	قزوین-۲	187488	59	Sanandaj5	سنندج-۵	188254	111	Saghez3	سقز-۳	2436889
8	Hamedan1	همدان-۱	187515	60	Mahidasht2	ماهیدشت-۲	188255	112	Sabzvar19	سیزوار-۱۹	2436902
9	Gorgan1	گرگان-۱	187518	61	Sanandaj6	سنندج-۶	188259	113	Shiraz8	شیراز-۸	2436907
10	Neishabour2	نیشابور-۲	187550	62	Malayer3	ملایر-۳	188269	114	Shiraz9	شیراز-۹	2436908
11	Dastjerd1	دستجرد-۱	187551	63	Toyserkan2	تویسرکان-۲	188280	115	Maragheh2	مرغه-۲	147443
12	Bojnourd3	بجنورد-۳	187583	64	Torbat-Heidari2	تربت حیدریه-۲	188290	116	Iran46	ایران-۴۶	188983
13	Feridan1	فریدان-۱	187585	65	Sabzvar6	سیزوار-۶	188324	117	Iran47	ایران-۴۷	189069
14	Semirom1	سمرق-۱	187631	66	Sabzvar7	سیزوار-۷	188325	118	Iran49	ایران-۴۹	188983
15	Ghoochan2	قوچان-۲	187636	67	Sabzvar9	سیزوار-۹	188330	119	Iran50	ایران-۵۰	189069
16	Birjand3	بیرجند-۳	187637	68	Bojnourd6	بجنورد-۶	188332	120	Tehran1	تهران-۱	147499
17	Shiraz2	شیراز-۲	187664	69	Kashmar3	کاشمر-۳	188338	121	Birjand11	بیرجند-۱۱	187566
18	Shiraz3	شیراز-۳	187665	70	Yazd5	یزد-۵	188339	122	Sarakhs2	سرخس-۲	187976
19	Fasa1	فسا-۱	187676	71	Sabzvar13	سیزوار-۱۳	188355	123	Iran51	ایران-۵۱	188982
20	Shiraz5	شیراز-۵	187686	72	Sabzvar14	سیزوار-۱۴	188363	124	Iran52	ایران-۵۲	189428
21	Ardabil1	اردبیل-۱	187699	73	Ardakan3	اردکان-۳	188368	125	Zanjan3	زنجان-۳	283104
22	Shiraz7	شیراز-۷	187742	74	Mashhad7	مشهد-۷	188370	126	Shahrood5	شاهرود-۵	283300
23	Mashhad2	مشهد-۲	187787	75	Mashhad10	مشهد-۱۰	188383	127	Semnan3	سمنان-۳	283321
24	Torbat-Jam2	تربت جام-۲	187793	76	Sabzvar15	سیزوار-۱۵	188384	128	Kerman5	کرمان-۵	284067
25	Zanjan2	زنجان-۲	187810	77	Bojnourd8	بجنورد-۸	188412	129	Zahedan1	زاهدان-۱	284078
26	Mashhad3	مشهد-۳	187814	78	Bojnourd10	بجنورد-۱۰	188418	130	Zahedan2	زاهدان-۲	284083
27	Sanandaj3	سنندج-۳	187818	79	Hamedan4	همدان-۴	188425	131	Zahedan3	زاهدان-۳	284101
28	Naghadeh1	نقده-۱	187838	80	Tabas2	طبس-۲	188441	132	Zahedan4	زاهدان-۴	284104
29	Borujerd2	بروجرد-۲	187848	81	Shahre-Kord4	شهرکرد-۴	188444	133	Esfahan18	اصفهان-۱۸	284138
30	Mahabad1	ماهباد-۱	187853	82	Hashht-Rood2	هشت‌رود-۲	188449	134	Esfahan19	اصفهان-۱۹	284151
31	Mahabad2	ماهباد-۲	187855	83	Arak3	اراک-۳	373467	135	Esfahan20	اصفهان-۲۰	284251
32	Ghoochan5	قوچان-۵	187856	84	Hamedan5	همدان-۵	373482	136	Esfahan21	اصفهان-۲۱	284368
33	Ghoochan6	قوچان-۶	187857	85	Tabas3	طبس-۳	373485	137	Esfahan22	اصفهان-۲۲	284369
34	Mashhad4	مشهد-۴	187858	86	Torbat-Jam8	تربت جام-۸	373571	138	Shahre-Kord7	شهرکرد-۷	373522
35	Foومان1	فومن-۱	187863	87	Gorgan3	گرگان-۳	373672	139	Mashhad14	مشهد-۱۴	375175
36	Bojnourd4	بجنورد-۴	188025	88	Semnan2	سمنان-۲	373674	140	Shahre-Kord8	شهرکرد-۸	375560
37	Bojnourd5	بجنورد-۵	188026	89	Mashhad13	مشهد-۱۳	373682	141	Mashhad15	مشهد-۱۵	375564
38	Dareh-Gaz2	دره گز-۲	188027	90	Shirvan3	شیروان-۳	373716	142	Mashhad16	مشهد-۱۶	375566
39	Ghoochan7	قوچان-۷	188028	91	Dareh-Gaz3	دره گز-۳	373726	143	Mashhad17	مشهد-۱۷	375567
40	Sarakhs1	سرخس-۱	188029	92	Ghoochan12	قوچان-۱۲	373730	144	Mashhad18	مشهد-۱۸	375570
41	Shahrud1	شاهرود-۱	188037	93	Ghasrehirir3	قصر شیرین-۳	373733	145	Mashhad19	مشهد-۱۹	375583
42	Ghoochan8	قوچان-۸	188051	94	Malayer4	ملایر-۴	373743	146	Kerman7	کرمان-۷	375679
43	Shahrud2	شاهرود-۲	188055	95	Mahi-Dasht3	ماهی دشت-۳	373745	147	Kerman8	کرمان-۸	375681
44	Shahrud3	شاهرود-۳	188067	96	Gazvin10	قزوین-۱۰	373754	148	Kerman9	کرمان-۹	375687
45	Najaf-Abad2	نجف آباد-۲	188076	97	Varamin2	ورامین-۲	373756	149	Kerman10	کرمان-۱۰	375698
46	Shah-Abad3	اسلام آباد غرب-۳	188086	98	Gilane-Gharb5	گیلان غرب-۵	373758	150	Kerman11	کرمان-۱۱	375720
47	Mashhad6	مشهد-۶	188095	99	Hamedan6	همدان-۶	373759	151	Esfahan23	اصفهان-۲۳	375905
48	Shah-Abad4	اسلام آباد غرب-۴	188105	100	Esfahan15	اصفهان-۱۵	373760	152	Esfahan24	اصفهان-۲۴	375961
49	Gazvin6	قزوین-۶	188113	101	Neishabour8	نیشابور-۸	373764	153	Yazd8	یزد-۸	376010
50	Sabzvar4	سیزوار-۴	188122	102	Ghasrehirir4	قصر شیرین-۴	373769	154	Tehran2	تهران-۲	2437268
51	Ghoochan9	قوچان-۹	188125	103	Shah-Abad7	اسلام آباد غرب-۷	373770	155	Ch	بهاره چیتی	
52	Torbat-Jam6	تربت جام-۶	188136	104	Kashmar4	کاشمر-۴	373773				

۱: کد شناسایی در CIMMYT

مدل GS-3000 کمپانی Corbett robotics انجام شد. چاهک‌های ابتدا و انتهای ژل نشانگر وزن مولکولی با برای تعیین اندازه نسبی قطعات تکثیر شده در اندازه قطعات ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز استفاده شد.

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای اختصاصی گروه، برای تکثیر ژن‌های رمزکننده گلوٲین‌های با وزن مولکولی پایین

Table 2. Group-specific primers properties for amplification of LMW-GS genes

نام آغازگر Marker	توالی ۵'-۳' Sequence (5'-3')	مکان کروموزومی Chromosome location	دمای اتصال (°C) Annealing temperature(°C)
Glu3A.2	AGTGCCATTGCGCAGATGAAT AACGGATGGTTGAACAATAGA	1AS	54.8
Glu3A.3	ATGGAGACTAGCTGCATCC CTGCAAAAAGGTACCCTTTT	1AS	62
Glu3B.2	CCTAGCTTGGAGAAACCATT CAAGATAGATGGCTGAATAG	1BS	51
Glu3D.2	ATGGAGACTAGCCGCGTCCCT TGACCTAGCAAGACGTTGCGA	1DS	64
Glu3D.3	ATGGAGACTAGATGCATCCCT AGATTGGATGGAACCCTGAAC	1DS	56
Glu3D.4	ATGGAGACTAGCTGCATCT CTGCAAAAAGGTACCCTGTA	1DS	62

از نرم‌افزار GenALEx 6 (Peakall and Smouse, 2006) انجام شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های حاصل از ژن‌های LMW-GS با الگوریتم Neighbor-Joining و ضریب فاصله Jukes-Cantor در نرم‌افزار MEGA 5.05 (Tamura *et al.*, 2011) انجام گرفت.

### نتایج و بحث

برای بررسی تنوع اللی ژن‌های LMW-GS در گندم‌های بهاره بومی از نه جفت آغازگر اختصاصی طراحی شده توسط لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2005) برای نه گروه ژنی طبقه‌بندی شده براساس توالی اسید آمینی حفاظت شده انتهای آمینی پروتئین آن‌ها استفاده شد. از مجموع نه جفت آغازگر دو، یک و سه جفت آغازگر به ترتیب مربوط به مکان ژنی *Glu-A3*، *Glu-B3* و *Glu-D3* در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تکثیر نشان دادند.

#### ۱- تنوع اللی در مکان ژنی *Glu-A3*

برای تکثیر ژن‌های زیر گروه مکان *Glu-A3* از دو

### تجزیه آماری

الگوی نواری حاصل از جفت آغازگرها به صورت صفر (عدم وجود نوار) و یک (وجود نوار) امتیازدهی شدند. تعداد الل‌ها و فراوانی اللی در هر مکان ژنی و هر جفت آغازگر نیز برآورد شد. برای تعیین قدرت تمایز نشانگر، پارامترهای میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) (Botstein *et al.*, 1980) و شاخص تنوع ژنی نی (H) (Nei, 1973) یا هتروزیگوتی مورد انتظار با استفاده از روابط زیر توسط نرم‌افزار PowerMarker V3.25 (Liu and Muse, 2005) محاسبه گردید.

$$PIC = 1 - \sum p_i^2 - \sum p_i^2 p_j^2 \quad (1)$$

$$H = 1 - \sum p_i^2 \quad (2)$$

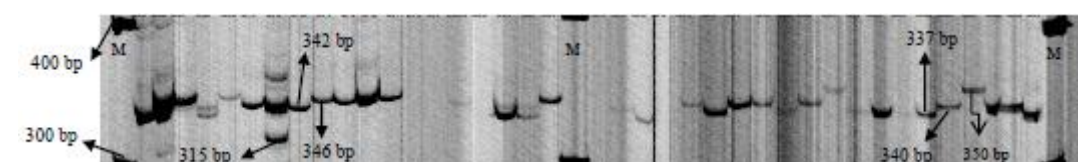
$p_i$  و  $p_j$  به ترتیب فراوانی الل نام و زام هستند.

گندم‌های بهاره ایران بر اساس مناطق آب و هوایی کشور به شش گروه شامل مناطق سرد، کوهستانی، معتدل، گرم، خشک و ناشناخته تقسیم و تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) تفکیک واریانس مولکولی کل به واریانس ژنتیکی درون و بین گروهی با استفاده

کوتاه کروموزوم 1A قرار دارند، هفت ال شناسایی شد (شکل ۱). در رقم بهار چینی قطعه‌ای با استفاده از این جفت آغازگر تکثیر نشد. قطعات تکثیری دارای اندازه ۳۵۸، ۳۵۰، ۳۴۶، ۳۴۲، ۳۴۰، ۳۳۷ و ۳۱۵ جفت باز به ترتیب با فراوانی ۲/۲، ۷/۴، ۱۷/۴، ۴۰/۳، ۱۶/۳ و ۱۵/۲ و ۱/۹ درصد بودند. قطعه ۳۴۲ جفت باز با فراوانی ۴۰ درصد بیشترین و قطعه ۳۱۵ جفت باز با فراوانی ۱/۹ درصد کمترین فراوانی را در بین قطعات تکثیر شده به خود اختصاص دادند (شکل ۲). لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2005) با استفاده از این جفت آغازگر در ۲۷ گندم دیپلوئید سه ال با اندازه‌های ۳۲۰، ۳۴۰ و ۳۵۰ جفت باز را شناسایی نمودند. هفت ال تکثیر شده در این مطالعه تنوع الی بالای ژن‌های گلوتنین با وزن مولکولی پایین گندم‌های بومی ایران را نشان می‌دهد.

جفت آغازگر اختصاصی گروه، شامل Glu3A.2 و Glu3A.3 استفاده شد. با استفاده از این دو جفت آغازگر در مجموع، ۱۲ ال در مکان *Glu-A3* تکثیر شدند. قطعه ۷۰۰ جفت باز با ۴۵/۳ درصد و قطعه ۷۴۲ جفت باز با ۰/۲ درصد بیشترین و کمترین فراوانی را داشتند. تاناکا و همکاران (Tanaka *et al.*, 2005) در بررسی تنوع ژنی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین در ۲۳۳ رقم گندم نان آسیایی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی چهار ال برای مکان *Glu-A3* شناسایی کردند و ال ۵۵۴ جفت باز با فراوانی ۶۱ درصد بالاترین فراوانی را داشت.

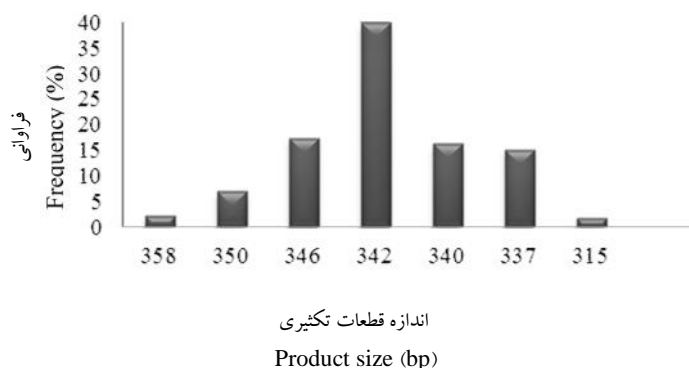
با استفاده از جفت آغازگر Glu3A.2 طراحی شده براساس ژن‌های زیرگروه رمزکننده پروتئین‌هایی با توالی انتهای آمینی -MDTSCIP که روی بازوی



شکل ۱- قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3A.2 در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم بومی بهاره ایران  
M: نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰۰ جفت باز

Fig. 1. The amplification products using Glu3A.2 primer pairs in Iranian spring wheat landraces

M: DNA ladder marker 1000 bp

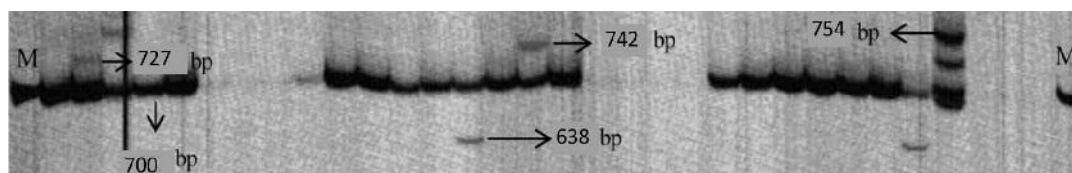


شکل ۲- فراوانی ال‌های تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3A.2 در ژنوتیپ‌های گندم بومی بهاره ایران

Fig. 2. The frequency of amplified alleles using Glu3A.2 primer pairs in Iranian spring wheat landraces

با استفاده از جفت آغازگر *Glu3A.3* طراحی شده براساس توالی ژن‌های زیرگروه رمزکننده پروتئین‌هایی با انتهای آمینی حفاظت شده *METSHIP-1A*، پنج ال در ژنوتیپ‌های بازوی کوتاه کروموزوم 1A، پنج ال در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تکثیر شدند (شکل ۳). قطعه ۷۵۴ جفت بازی با ۰/۸ درصد، قطعه ۷۴۲ جفت بازی با ۰/۴ درصد، قطعه ۷۲۷ جفت بازی با ۲/۴ درصد، قطعه ۷۰۰ جفت بازی با ۹۴/۸ درصد و قطعه ۶۳۸ جفت بازی با ۱/۶ درصد مشاهده گردیدند. در بین قطعات تکثیری ال ۷۰۰ جفت بازی با ۹۴/۸ درصد بیشترین و ال ۷۴۲ جفت بازی با ۰/۴ درصد کمترین فراوانی را به خود

اختصاص دادند. رقم بهار چینی دارای ال ۷۰۰ جفت بازی بود. لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2005) یک قطعه ۶۸۰ جفت بازی را در بین ۲۷ نمونه گندم دیپلوئید گزارش کردند. لی و همکاران (Li *et al.*, 2012) در مطالعه تنوع ژنتیکی ژن‌های LMW-GS در ۶۸ ژنوتیپ *Triticum turgidum* چینی، دو ال با اندازه‌های حدود ۷۰۰ و بزرگتر از ۷۰۰ جفت باز و به ترتیب با فراوانی ۹۸/۵ و ۱/۵ درصد گزارش کردند. حسینیان خوشرو و همکاران (Hoseinian *et al.*, 2010) در بین ۶۲ ژنوتیپ تجاری گندم نان چهار ال با اندازه تقریبی ۵۰۰-۶۰۰ جفت باز را شناسایی کردند.



شکل ۳- قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگر *Glu3A.3* در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم بومی بهاره ایران  
M: نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰۰ جفت باز

Fig. 3. The amplification products using *Glu3A.3* primer pairs in Iranian spring wheat landraces

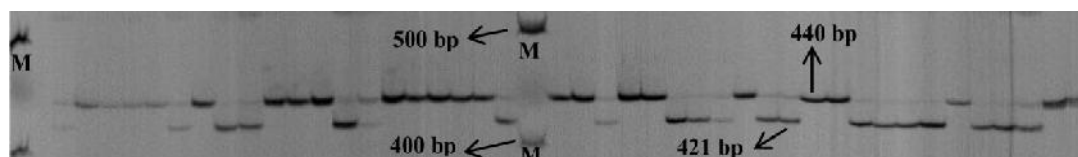
M: DNA ladder marker 1000 bp

دارند. لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2005) با استفاده از جفت آغازگر *Glu3B.2* در لاین‌های دی تلوسومیک رقم بهار چینی، قطعه‌ای با اندازه ۴۵۰ جفت باز تکثیر کردند. با توجه به اینکه در تحقیق حاضر از ژل آکرلامید استفاده شد که نسبت به الکتروفورز ژل آگارز مورد استفاده در آزمایش‌های قبلی، دقت بالایی در تعیین اندازه الی دارد، احتمالاً ال ۴۴۰ جفت بازی شناسایی شده، ال ۴۵۰ جفت بازی توسط محققان دیگر باشد. تنهاییان و همکاران (Tanhaiyan *et al.*, 2009) در مطالعه تنوع الی مکان ژنی *Glu-B3* در ۶۲ ژنوتیپ گندم زراعی ایران با استفاده از آغازگر *Glu3B.2*، چهار ال با محدوده تقریبی ۴۵۰-۵۵۰ جفت باز گزارش نمودند.

## ۲- تنوع الی در مکان ژنی *Glu-B3*

در مکان ژنی *Glu-B3* فقط جفت آغازگر *Glu3B.2* طراحی شده براساس ژن‌های زیرگروه رمزکننده پروتئین‌هایی با توالی حفاظت شده انتهای آمینی *METSHIP-1A* واقع در بازوی کوتاه کروموزوم 1B در ژنوتیپ‌های گندم بومی ایران تکثیر نشان داد. با استفاده از این جفت آغازگر دو قطعه تکثیر شد (شکل ۴). در رقم بهار چینی نیز ال ۴۴۰ جفت بازی مشاهده گردید. قطعه ۴۴۰ جفت بازی با ۷۳/۲ درصد، بیشترین و قطعه ۴۲۱ جفت بازی با ۲۶/۸ درصد، کمترین فراوانی را دارا بودند. ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2007) گزارش کردند که زیرواحدهای گلوٹنین با وزن مولکولی پایین در مکان *Glu-B3* تاثیر معنی‌داری روی کیفیت محصولات نهایی گندم

" تنوع الی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی..."



شکل ۴- الی های تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3B.2 در تعدادی از ژنوتیپ های گندم بومی بهاره ایران  
M: نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰۰ جفت باز

Fig. 4. The amplification products using Glu3B.2 primer pairs in Iranian spring wheat landraces

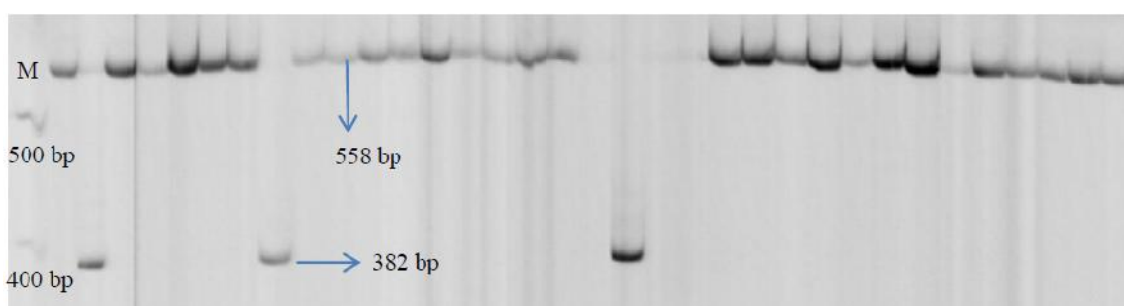
M: DNA ladder marker 1000 bp

جفت آغازگر تکثیر نشد. الی ۵۵۸ جفت بازی در ۱۳۳ ژنوتیپ و با ۹۲/۴ درصد تکثیر شد. در مجموع ۱۱ ژنوتیپ حامل الی ۳۸۲ بازی بودند و ۷/۶ درصد فراوانی را به خود اختصاص دادند. حسینیان خوشرو و همکاران (Hoseinian *et al.*, 2010) با استفاده از آغازگر Glu3D.2، چهار الی در محدوده ۳۵۰-۵۵۰ جفت باز در ۶۲ ژنوتیپ تجاری گندم نان گزارش کردند. لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2005) در مطالعه ۲۷ گندم دیپلوئید *Ae. tauschii* قطع ۵۴۰ جفت بازی را گزارش کردند.

### ۳- تنوع الی در مکان ژنی *Glu-D3*

برای تکثیر ژن های زیر گروه LMW-GS در مکان *Glu-D3* از سه جفت آغازگر Glu3D.2، Glu3D.3 و Glu3D.4 استفاده شد که در مجموع ۹ الی در این مکان تکثیر گردید.

جفت آغازگر Glu3D.2 طراحی شده بر اساس توالی ژن های زیر گروه رمز کننده پروتئین هایی با انتهای آمینی حفاظت شده METSRV- واقع در بازوی کوتاه 1D، دو قطعه با اندازه های ۵۵۸ و ۳۸۲ جفت باز در ژنوتیپ های گندم بهاره بومی تکثیر کرد (شکل ۵). در رقم بهار چینی قطعه ای با استفاده از این



شکل ۵- قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3D.2 در تعدادی از ژنوتیپ های گندم بومی بهاره ایران  
M: نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰۰ جفت باز

Fig. 5. The amplification products using Glu3D.2 primer pairs in Iranian spring wheat landraces

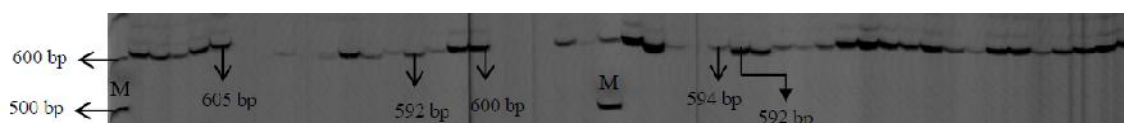
M: DNA ladder marker 1000 bp

کروموزوم 1D قرار دارند، شش الی تکثیر (شکل ۶). در رقم بهار چینی قطعه ای با استفاده از این جفت آغازگر تکثیر نشد.

با استفاده از جفت آغازگر Glu3D.3 طراحی شده بر اساس ژن های زیر گروه رمز کننده پروتئین هایی با توالی انتهای آمینی METCIP- که روی بازوی کوتاه

اللی زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی پایین در ۱۶ ژنوتیپ گندم تتراپلوئید بومی ایران گزارش شده است (Amini *et al.*, 2012). حسینیان خوشرو و همکاران (Hoseinian *et al.*, 2010) با استفاده از آغازگر Glu3D.3، هفت ال در محدوده ۶۵۰-۵۵۰ جفت باز در ۶۲ ژنوتیپ تجاری گندم نان تکثیر کردند.

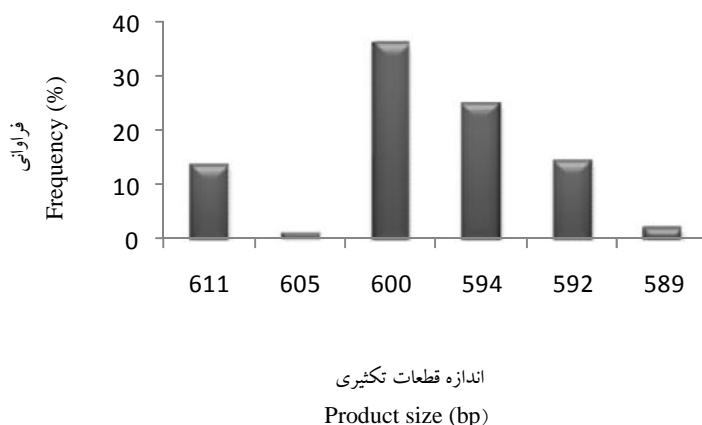
قطعات تکثیری دارای اندازه ۶۱۱، ۶۰۵، ۶۰۰، ۵۹۴، ۵۹۲ و ۵۸۹ جفت باز به ترتیب با فراوانی ۱۳/۵، ۹، ۳۶/۱، ۲۴/۸، ۱۴/۳ و ۲/۳ درصد بودند. در بین ال‌های تکثیر شده، قطعه ۶۰۰ جفت بازی با ۳۶/۱ درصد و قطعه ۵۸۹ جفت بازی با ۲/۳ درصد به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین فراوانی را دارا بودند (شکل ۷). ال ۶۰۰ جفت بازی با فراوانی ۳۷/۵ درصد در مطالعه تنوع



شکل ۶- قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3D.3 در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم بومی بهاره ایران  
M: نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰۰ جفت باز

Fig. 6. The amplification products using Glu3D.3 primer pair in Iranian spring wheat landraces

M: DNA ladder marker 1000 bp



شکل ۷- فراوانی ال‌های تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3D.3 در ژنوتیپ‌های گندم بومی بهاره ایران

Fig. 7. The frequency of amplified alleles using Glu3D.3 primer pairs in Iranian spring wheat landraces

استفاده از جفت آغازگر Glu3D.4، حسینیان خوشرو و همکاران (Hoseinian *et al.*, 2010) پنج ال با اندازه ۷۵۰-۶۵۰ جفت باز در ژنوتیپ‌های تجاری گندم نان شناسایی کردند.

#### پارامترهای ژنتیکی جفت آغازگرها

ال شایع، اللی است که بیشترین فراوانی را در بین ال‌های تکثیر شده توسط یک جفت آغازگر دارد. میانگین این شاخص برای جفت آغازگرهای چند

توسط جفت آغازگر Glu3D.4 طراحی شده براساس ژن‌های زیرگروه رمزکننده پروتئین‌هایی با توالی انتهای آمینی -METSCIS- یک قطعه با اندازه ۷۰۰ جفت باز در گندم‌های بهاره ایران تکثیر شد. در این جایگاه دو ال با اندازه‌های ۷۰۰ و ۷۵۰ جفت بازی را در مطالعه تنوع اللی زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی پایین در ۱۶ ژنوتیپ گندم تتراپلوئید بومی ایران گزارش شده است (Amini *et al.*, 2012). با

لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2008) تنوع طولی ژن‌های کنترل کننده گلوتنین‌های با وزن مولکولی پایین را در ۷۱ ژنوتیپ گندم توسط آغازگرهای اختصاصی مطالعه و تنوع بالایی را در ناحیه تکراری ژن‌های LMW-GS گزارش کردند. میزان شاخص تنوع ژنی نی در گونه‌های وحشی *T. urartu* و *T. boeoticum* به ترتیب ۰/۸۱ و ۰/۷۸ بدست آمد. از تنوع ژنتیکی می‌توان در جهت بهبود تولید خمیر حاصل از گندم‌های نان استفاده نمود.

شکل ۰/۸ و در محدوده ۰/۳۶ برای جفت آغازگر Glu3D.3 و ۰/۹۵ برای جفت آغازگر Glu3A.3 بود. حداقل و حداکثر PIC به ترتیب مربوط به آغازگر Glu3A.3 (۰/۰۹) و Glu3D.3 (۰/۷۲) با میانگین ۰/۲۲۴ برآورد شد. تنوع ژنی با میانگین ۰/۲۴ و در دامنه ۰/۱ برای جفت آغازگر Glu3A.3 تا ۰/۷۶ برای جفت آغازگر Glu3D.3 متغیر بود. میزان هتروزیگوتی مشاهده شده از ۰/۰۱ برای جفت آغازگر Glu3D.3 تا ۰/۱۸ برای جفت آغازگر Glu3A.2 با متوسط ۰/۰۵ برآورد شد (جدول ۲).

جدول ۳- پارامترهای ژنتیکی برآورد شده برای جفت آغازگرهای چند شکل در ژنوتیپ‌های گندم بومی ایران

Table 3. Genetic parameters estimated for polymorphic primer pairs in Iranian spring wheat landraces

نام آغازگر Marker	فراوانی الل شایع Major allele frequency	تنوع ژنی Gene diversity	میزان اطلاعات چند شکلی PIC	هتروزیگوتی مشاهده شده Heterozygosity
Glu3A.2	0.38	0.77	0.74	0.13
Glu3A.3	0.93	0.13	0.13	0.14
Glu3B.2	0.72	0.4	0.32	0.16
Glu3D.2	0.91	0.17	0.16	0.07
Glu3D.3	0.3	0.79	0.76	0.01
میانگین Mean	0.65	0.45	0.42	0.1

انجام داده‌اند.

### گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از داده‌های حاصل از جفت آغازگرهای اختصاصی

برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از الگوریتم Neighbor-Joining و ضریب فاصله Jukes-Cantor استفاده شد. با توجه به اعداد Bootstrap، بیشترین تمایز بین گروه‌ها در محل برش دندروگرام با دو گروه اصلی و چهار زیر گروه ایجاد شد (شکل ۸). با توجه به شکل و نحوه قرارگیری ژنوتیپ‌ها در زیرگروه‌ها عدم وجود رابطه بین تنوع الی ژن‌های LMW-GS و شرایط آب و هوایی در گندم‌های بومی را تایید می‌کند. به عنوان مثال، ژنوتیپ‌های شهرکرد-۴، ورامین-۲، کرمان-۷ و زاهدان-۳ در یک گروه قرار گرفتند که به ترتیب به مناطق کوهستانی، معتدل،

### تجزیه واریانس مولکولی بر اساس داده‌های آغازگرهای اختصاصی ژن‌های LMW-GS

برای بررسی رابطه تنوع الی ژن‌های LMW-GS گندم‌های بهاره ایران و مناطق آب و هوایی کشور، تجزیه واریانس مولکولی انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا ژنوتیپ‌ها بر اساس منطقه جمع‌آوری به شش گروه شامل مناطق سرد، کوهستانی، معتدل، گرم، خشک و ناشناخته تقسیم شدند. نتایج تجزیه واریانس مولکولی داده‌های حاصل از آغازگرهای اختصاصی LMW-GS نشان داد که واریانس درون و بین گروهی به ترتیب ۸۷ و ۱۳ درصد واریانس کل مولکولی را تبیین کردند. این نشان داد که کیفیت نانوائی تابع شرایط آب و هوایی نیست و زارعین در هر منطقه علاوه بر گزینش برای عملکرد بالا، گزینش برای کیفیت نانوائی مطلوب را نیز



شکل ۸- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم بومی بهاره ایران بر اساس داده‌های حاصل از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های LMW و با استفاده از الگوریتم Neighbor-joining و ضریب فاصله Jukes-Cantor

Fig. 8. Genotype grouping of Iranian spring wheat landraces based LMW-GS specific primers and using Neighbor-joining method and Jukes-Cantor distance

بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که از تنوع وسیع موجود در داخل جمعیت‌های آزمایش حاضر می‌توان به عنوان منابع ژنتیکی مناسب برای اصلاح خصوصیات کیفی گندم نان استفاده کرد.

گرم و خشک تعلق دارند. در مطالعه تنوع زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین برای ۲۳ جمعیت از *Aegilops triuncialis* با روش SDS-PAGE گروه‌بندی نشان داد که تنوع در زیر واحدهای گلوتنین از توزیع جغرافیایی تبعیت نمی‌کند (Ghabezazu *et al.*, 2011).

## References

## منابع مورد استفاده

- Amini, M., J. Ahmadi, M. Nagaviand R. Hosseini. 2012.** Allelic diversity of low-molecular-weight glutenin subunit genes in tetraploid genotypes of Iranian wheat using specific markers. Proceeding of 12<sup>th</sup> Iranian Genetics Congress, 22-24 May, Shahid Beheshti University, Iran (In Persian).
- Arzani, A. 2001.** Breeding Field Crops (2<sup>th</sup> Ed.). Isfahan University Press. (In Persian).
- Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick and R. W. Davis. 1980.** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Human Genet.* 32: 314-331.
- D'Ovidio, R. and S. Masci. 2004.** The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. *J. Cereal Sci.* 39: 321-339.
- Gale, K. R. 2005.** Diagnostic DNA markers for quality traits in wheat. *J. Cereal Sci.* 41: 181-192.
- Ghabezazu, F., R. Asgharizakaria and S. Jahanbakhsh. 2011.** The study of diversity glutenin subunits in *Aegilops triuncialis* using SDS-PAGE. Proceeding of 1<sup>th</sup> National Conference on Economic Resolutions in the field of Agriculture and Natural Resources. Plant. 15-16 Dec., Qom, Iran. (In Persian).
- Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J.M. 1992.** Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- Hoseinian-Khoshru. H., M. Behamta, M. Hassani and M. Omid. 2010.** Allelic variation of low-molecular-weight glutenin subunits genes in commercial genotypes Iranian bread wheat using specific markers. *Iran. J. Field Crop Sci.* 41: 345-354. (In Persian with English abstract).
- 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. *Afr. J. Agric. Res.* 7: 2025-2033.
- Liu, K. and S. V. Muse. 2005.** PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, 21: 2128-2129.
- Long, H., Z. Huang, Y. M. Wei, Z. H. Yan, Z. C. Ma and Y. L. Zheng. 2008.** Length variation of i-type Low-molecular-weight glutenin subunit genes in diploid wheats. *Russ. J. Genet.* 44: 429-435.
- Long, H., Y. M. Wei, Z. H. Yan, B. Baum, E. Nevo and Y. L. Zheng. 2005.** Classification of wheat low-molecular-weight glutenin subunit genes and its chromosome assignment by developing LMW-GS group-

- specific primers. *Theor. Appl. Genet.* 111: 1251-1259.
- Nei, M. 1973.** Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 70: 3321-3323.
- Peakall, R. and P. E. Smouse. 2006.** GENALEX 6.4: Genetic analysis in Excel: Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, 6: 288-295.
- Saghai Maroof, M. A., K. Solaiman, R. A. Tprgensen and R. W. Allard. 1984.** Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81: 8014-8018.
- Si, H., Y. Gao, F. Liu, Z. Li and M. Chuanxi. 2012.** Distribution of low-molecular-weight glutenin subunit *Glu-B3* alleles in minicore collections of Chinese wheat germplasms. *Austr. J. Crop Sci.* 9: 1390-1394.
- Singh, N.K. and K. W. Shepherd. 1985.** The structure and genetic control of a new class of disulphide-linked proteins in wheat endosperm. *Theor. Appl. Genet.*, 71: 79-92.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei and S. Kumar. 2011.** MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software, version 5.0. *Mol. Biol. Evol.* 24: 1596-1599.
- Tanaka, H., S. Toyoda and H. Tsujimoto. 2005.** Diversity of low-molecular-weight glutenin subunit genes in Asian common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Breed. Sci.* 55: 349-354.
- Tanhaiyan, A., F. Shahriari, S. H. Marashi and E. Dehghan. 2009.** Study of allelic variation at *Glu-B3* locus of the Iranian bread wheat cultivars by using ALP molecular marker. *Iran. J. Field Crops Res.* 7: 367-374. (In Persian with English abstract).
- Van Campenhout, S., S. J. Vander, L. Sagi and G. Volckaert. 1995.** Locus-specific primers for LMW glutenin genes on each of the group 1 chromosomes of hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 91: 313-319.
- 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. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1295-1303.
- Zhao, X. L., X. C. Xia, Z. H. He, Z. S. Lei, R. Appels, Y. Yang, Q. X. Sun and W. Ma. 2007.** Novel DNA variations to characterize low molecular weight glutenin *Glu-D3* genes and develop STS markers in common wheat. *Theor. Appl. Genet.* 114: 451-460.

## Allelic diversity of low molecular weight glutenin subunit at *Glu-A3*, *Glu-B3* and *Glu-D3* loci in Iranian spring bread wheat landraces

Shariat, F<sup>1</sup>., S. A. Mohammadi<sup>2</sup>, M. Norouzi<sup>3</sup> and M. Valizadeh<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Shariat, F., S. A. Mohammadi, M. Norouzi and M. Valizadeh. 2015. Allelic diversity of low molecular weight glutenin subunit at *Glu-A3*, *Glu-B3* and *Glu-D3* loci in Iranian spring bread wheat landraces. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 17(1):74 -87. (In Persian).

Baking quality is one of the most important priorities in bread wheat breeding programs. Therefore, breeding of high yielding cultivars with high baking quality is very important. In the present study, allelic diversity of low-molecular-weight glutenin genes was analyzed in 154 Iranian spring bread wheat landraces and Chinese Spring variety using group-specific primers. In *Glu-A3*, *Glu-B3* and *Glu-D3* loci, in total 12, 2 and 9 alleles, were amplified, respectively. In *Glu-A3* locus, using two primer pairs Glu3A.2 and Glu3A.3 gene sub-groups coding proteins with the N-terminal sequences of MDTSCIP- and METSCIP- was amplified. The fragment of 700-bp length with 45.3% and fragment with size of 742-bp with 0.2% showed maximum and minimum frequency in this locus. In *Glu-B3* locus, using Glu3B.2 primer pair designed based gene on sub-groups coding proteins with the N-terminal sequence of METSHIPG-, two fragments of 440 and 421-bp with frequency of 73.2 and 26.8%, were amplified, respectively. The Glu3D.2, Glu3D.3 and Glu3D.4 primer pairs designed, based on gene sub-groups coding proteins with the N-terminal sequences of METSRV-, METCIP- and METSCIP-, were used to amplify *Glu-D3* locus. The 700-bp allele with 34% and 589-bp allele with 0.7% showed maximum and minimum allele frequency in this locus. The PIC value ranged from 0.09 to 0.72 with an average of 0.22 and gene diversity or expected heterozygosity was in the range of 0.1 to 0.76 and mean value of 0.24. Molecular analysis of variance for allele diversity of LMW-GS genes showed that the variances within groups and between groups were 87 and 13%, respectively.

**Keywords:** Gene diversity, Gene locus, Group-specific primers and Bread wheat.

Received: December, 2014 Accepted: February, 2015

1- Former MSc. Student, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

2- Professor, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

3- Assistan Prof., Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran  
(Corresponding author)(Email: norouzi@tabrizu.ac.ir)

4- Professor, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran