

تنوع آلی ژن‌های زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین در گندم‌های پاییزه بومی ایران

فاطمه شریعت^۱، سید ابوالقاسم محمدی^{۲*}، مجید نوروزی^۴ و مصطفی ولی‌زاده^۲

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۳۰

چکیده

در این مطالعه، تنوع آلی ژن‌های زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین در ۱۹۳ گندم بومی پاییزه ایرانی و رقم Thatcher با استفاده از آغازگرهای اختصاصی بررسی شد. بر اساس جفت آغازگر Glu3A.2، هشت قطعه با اندازه ۳۱۵-۳۵۸ جفت باز تکثیر شد، به طوری که آل ۳۴۲ جفت بازی با ۳۷/۲ درصد بیشترین و آل ۳۱۵ جفت بازی با ۰/۶ درصد کمترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. جفت آغازگر Glu3A.3 نیز پنج قطعه در محدوده ۶۳۸-۷۵۴ جفت باز تکثیر کرد که در بین آن‌ها، آل‌های ۷۰۰ و ۷۴۲ جفت بازی به ترتیب با ۹۲/۱ درصد و ۰/۶ درصد بیشترین و کمترین فراوانی را داشتند. دو قطعه به طول ۴۴۰ و ۴۲۱ جفت باز به ترتیب با فراوانی ۷۴/۶ و ۲۵/۴ درصد با استفاده از جفت آغازگر Glu3B.2 تکثیر شد. جفت آغازگر Glu3D.2 سه قطعه با اندازه ۵۷۱، ۵۵۸ و ۳۸۲ جفت باز به ترتیب با فراوانی ۱/۷، ۸۸/۱ و ۱۰/۲ درصد تکثیر کرد. شش آل تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3D.3 نیز دارای اندازه‌ای در محدوده ۵۸۹ تا ۶۱۱ جفت باز و فراوانی بین ۱/۲-۲۷/۹ درصد بودند. با استفاده از جفت آغازگر Glu3D.4، فقط یک قطعه با اندازه ۷۰۰ جفت باز تکثیر شد. متوسط محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای تمامی آغازگرهای مطالعه شده، ۰/۲۴ به دست آمد که در بین آنها، آغازگرهای Glu3A.2 و Glu3D.3 با میزان ۰/۷۵ بیشترین و آغازگر Glu3A.3 با میزان ۰/۱۵ کمترین محتوای اطلاعات چندشکلی را نشان دادند. تنوع ژنی یا هتروزیگوسیتی مورد انتظار نیز از ۰/۱۵ تا ۰/۷۸ با میانگین ۰/۲۶ متغیر بود. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم Neighbor-Joining ارقام گندم پاییزه را به دو گروه تفکیک کرد. تجزیه واریانس مولکولی با تفکیک ارقام مورد مطالعه بر اساس شرایط اقلیمی به پنج منطقه شامل سرد، کوهستانی، معتدل، گرم و خشک، نشان دهنده سهم بیشتر واریانس درون گروهی (۹۴ درصد) در مقایسه با واریانس بین گروهی (۶ درصد) در تبیین واریانس مولکولی کل بود. نتایج این تحقیق نشان داد که توده‌های بومی گندم ایران ذخایر ژنتیکی متنوع و ارزشمندی از نظر ژن‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت نانوبی هستند.

واژه‌های کلیدی: آغازگر اختصاصی، تجزیه واریانس مولکولی، توده بومی، پروتئین ذخیره‌ای

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- استاد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳- قطب علمی اصلاح مولکولی غلات، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴- استادیار، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول: mohammadi@tabrizu.ac.ir

مقدمه

گندم اولین غله و مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا است. در ایران نیز این گیاه نقش اساسی در تغذیه مردم دارد (Arzani, 2001). کیفیت گندم به میزان پروتئین ذخیره‌ای دانه آن بستگی دارد. این پروتئین‌ها تعیین‌کننده قدرت کشت و خصوصیت منحصر به فرد ویسکوزیته خمیر هستند که این ویژگی‌ها با تغییر میزان و کیفیت گلوتن تغییر می‌کند (Cornish, 2001; Ma, 2005; Tanaka, 2005). گلوتین‌ها پروتئین‌های پلی‌مری هستند که زیرواحدهای آن توسط پیوندهای سولفیدی بین مولکولی و داخل مولکولی نگه داشته می‌شوند و تقسیم‌بندی این زیرواحدها بر اساس وزن مولکولی آن‌ها انجام می‌شود. زیرواحد گلوتین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS: Low Molecular Weight Glutenin Subunit) و زیرواحد گلوتین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS: High Molecular Weight Glutenin Subunit) اجزای مهم کمپلکس گلوتین گندم هستند. این پروتئین‌ها توسط خانواده ژنی با تنوع بالا رمز می‌شوند (Gale, 2005). گلوتین‌های با وزن مولکولی پایین به‌وسیله مکان‌های ژنی *Glu-3* که به‌صورت خانواده‌های ژنی اورتولوگ هستند، رمز می‌شوند. تعداد نسخه‌های آن‌ها هنوز به‌طور دقیق مشخص نشده است، اما بر اساس لکه‌گذاری ساترن تعداد نسخه‌های ژنی آن‌ها از ۱۵-۱۰ (Harberd, 1985) تا ۴۵-۳۵ (Cassidy, 1998) نسخه گزارش شده است. بر اساس داده‌های موجود در بانک اطلاعاتی NCBI، تا کنون ۲۲۵ ژن برای زیرواحد گلوتین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) شناسایی شده است. تحقیقات نشان داده است که اجزای با وزن مولکولی پایین نقش بیشتری در کشت‌پذیری خمیر ایفا می‌کنند (Gupta, 1989)، در حالی که اجزای با وزن مولکولی بالا بر شاخص حداکثر مقاومت خمیر تاثیرگذارتر هستند (Gupta and Shephard, 1990).

اغلب مطالعات انجام شده برای بررسی ارتباط اجزای گلوتین با وزن مولکولی پایین و کیفیت نان با استفاده از روش SDS-PAGE انجام گرفته است (Payne et al., 1981)، اما به دلیل همپوشانی آن‌ها با گلیادین‌ها در ژل SDS-PAGE، امکان شناسایی آل‌های بیشتر با مشکل مواجه است (Wang et al., 2008). استفاده از آغازگرهای اختصاصی، روشی ساده و دقیق می‌باشد و شناسایی آل‌ها را در هر مرحله از رشد گندم میسر

می‌سازد. چون نواحی رمزکننده ژن‌های LMW-GS فاقد اینترون بوده و نواحی رمزکننده انتهای آمینی و کربوکسیل دارای حفاظت‌شدگی بیشتری در مقایسه با قسمت‌های میانی هستند، بنابراین طراحی آغازگرهای اختصاصی آل بر اساس توالی‌های حفاظت‌شده امکان ارزیابی آن‌ها را از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمرز فراهم می‌کند (Li et al., 2012). لانگ و همکاران (Long et al., 2005) ۶۹ ژن شناخته شده رمزکننده گلوتین‌های با وزن مولکولی پایین گندم را بر پایه نتایج حاصل از توالی انتهای آمینی آن‌ها به نه گروه تقسیم و برای هر گروه آغازگرهای اختصاصی طراحی کردند. با استفاده از آغازگرهای اختصاصی در لاین‌های دی‌تلوسومیک گندم Chinese Spring موقعیت کروموزومی این ژن‌ها شناسایی و برای تایید آل‌های حاصل و گروه‌بندی، از ۲۷ رقم گندم دیپلوئید و گونه‌هایی از آزیلوپس استفاده شد. با استفاده از الگوهای نواری حاصل، چند شکلی بالایی در لاین‌های Chinese Spring مشاهده نشد، ولی تنوع بالایی از نظر ژن‌های رمزکننده LMW-GS در گندم‌های دیپلوئید و آزیلوپس وجود داشت. این نتایج نشان داد که گندم‌های دیپلوئید و گونه‌های آزیلوپس منابع ژنتیکی با ارزش از نظر تنوع آلی ژن‌های LMW-GS هستند که می‌توان از آن‌ها در بالا بردن کیفیت گندم استفاده کرد.

در بررسی تنوع ژنی زیرواحدهای گلوتین با وزن مولکولی پایین در ۲۳۳ رقم گندم نان آسیایی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، چهار آل برای مکان‌های *Glu-A3* و *Glu-B3* و یک آل برای مکان *Glu-D3* گزارش شد (Tanaka et al., 2005). حسینیان خوشرو و همکاران (Hoseinian Khoshru et al., 2010) با مطالعه تنوع آلی زیرواحدهای گلوتین با وزن مولکولی پایین در ۶۲ رقم تجاری گندم نان با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، تنوع قابل ملاحظه‌ای در ارقام گندم نان ایران گزارش کردند. آن‌ها برای مکان ژنی *Glu-A3* هشت آل، برای مکان *Glu-B3* هفده آل و برای مکان *Glu-D3* بیست و دو آل شناسایی کردند. امینی و همکاران (Amini et al., 2012) به‌منظور بررسی تنوع آلی ژن‌های گلوتین با وزن مولکولی پایین در ۱۶ ژنوتیپ گندم تتراپلوئید از پنج جفت آغازگر اختصاصی مکان *Glu-D3* استفاده کردند که با جفت آغازگر *Glu3D.3* قطعه ۶۰۰ جفت بازی با فراوانی ۳۷/۵ درصد و با جفت آغازگر *Glu3D.4*

وزن مولکولی با اندازه قطعات ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز استفاده شد.

قطعات ۷۰۰ و ۷۵۰ جفت بازی به ترتیب با فراوانی‌های ۹۳/۷ و ۶/۳ درصد تکثیر شد.

با توجه به اهمیت توده‌های بومی گندم از نظر ژن‌های کنترل کننده صفات مختلف از جمله کیفیت نانویی، بررسی تنوع ژن‌های گلوٹنین با وزن مولکولی پایین توسط آغازگرهای اختصاصی می‌تواند اطلاعات مفیدی را در رابطه با تنوع آلی ذخایر ژنتیکی در جهت طبقه‌بندی آن‌ها و امکان انتخاب ارقام مناسب برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی فراهم کند. در این راستا، مطالعه حاضر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های رمزکننده زیرواحد گلوٹنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS) در ۱۹۳ رقم گندم پاییزه بومی ایران اجرا شد که هدف از آن بررسی تنوع آل‌های تکثیر شده توسط این آغازگرها و گروه‌بندی گندم‌های پاییزه بومی ایران بر اساس تنوع آلی مشاهده شده بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده متشکل از ۱۹۳ توده گندم نان (*Triticum aestivum*) بومی ایران با عادت رشدی پاییزه جمع‌آوری شده از نقاط مختلف کشور و رقم Thatcher به‌عنوان شاهد استاندارد بود که از بانک ژن مرکز بین‌المللی CIMMYT دریافت شد (جدول ۱). استخراج DNA ژنومی به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1984) با استفاده از نمونه‌های برگ برداشت شده در مرحله ۳-۴ برگ انجام شد. کیفیت و کمیت نمونه‌های DNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتر تعیین شد. تکثیر قطعات با استفاده از آغازگرهای اختصاصی طراحی شده توسط لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2005) برای ژن‌های رمزکننده گلوٹنین با وزن مولکولی پایین (جدول ۲) در حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه با واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای اختصاصی به مدت یک دقیقه و بسط در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود. جداسازی محصولات تکثیری با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌آکرلامید ۴ درصد و در دستگاه ژل اسکن ۳۰۰۰ انجام شد. برای تعیین اندازه نسبی قطعات تکثیر شده از نشانگر

تجزیه آماری

الگوی نواری حاصل از جفت آغازگرها به صورت صفر (عدم وجود نوار) و یک (وجود نوار) امتیازدهی و تعداد قطعات تکثیری با استفاده از هر جفت آغازگر تعیین و فراوانی قطعات برآورد شد. برای تعیین قدرت تمایز نشانگرها، شاخص‌های محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC: Polymorphic Information Content) و تنوع ژنی نی (Nei, 1973) با استفاده نرم‌افزار PowerMarker 3.25 (Liu and Muse, 2005) برآورد شدند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های مولکولی حاصل از ژن‌های LMW-GS با استفاده از تجزیه خوشه‌ای انجام شد. برای گروه‌بندی از الگوریتم Neighbor-Joining و ضریب فاصله No. of differences در نرم‌افزار MEGA 5.05 (Tamura *et al.*, 2011) استفاده شد. گندم‌های پاییزه ایران بر اساس مناطق آب و هوایی کشور به پنج جمعیت شامل مناطق سرد، کوهستانی، معتدل، گرم و خشک تقسیم و سپس جهت تفکیک واریانس مولکولی کل به واریانس ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها، تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) (Exoffier *et al.*, 1992) با استفاده از نرم‌افزار GenALEX 6 (Peakall and Smouse, 2006) انجام شد.

نتایج و بحث

جفت آغازگر Glu3A.2

جفت آغازگر Glu3A.2. هشت آل با اندازه‌های ۳۵۸، ۳۵۰، ۳۴۶، ۳۴۲، ۳۴۰، ۳۳۷، ۳۲۵ و ۳۱۵ جفت باز به ترتیب با فراوانی ۵/۶، ۷/۸، ۱۴/۷، ۳۷/۲، ۱۸/۸، ۱۳/۱، ۲/۲ و ۰/۶ درصد در ارقام گندم پاییزه بومی ایران تکثیر کرد (شکل ۱)، در حالی که در رقم Thatcher هیچ قطعه‌ای با استفاده از این جفت آغازگر تکثیر نشد. در مطالعه‌ای که لی و همکاران (Li *et al.*, 2012) در ۶۸ ژنوتیپ *Triticum turgidum* چین انجام دادند، فقط دو آل با اندازه ۳۵۰ جفت باز با فراوانی ۹۷ درصد و بزرگ‌تر از ۳۵۰ جفت باز با فراوانی ۳ درصد گزارش کردند که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بسیار بیشتر ارقام گندم ایران نسبت به ارقام چین است.

جدول ۱- نام و کد بانک ژن CIMMYT (GID) و ناحیه جغرافیایی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Table 1. Name, CIMMYT gene bank (GID) and geographical regions of the studied genotypes

ردیف Row	منطقه Area	GID	ردیف Row	منطقه Area	GID	ردیف Row	منطقه Area	GID
1	ارومیه-۱ Urmia1	147447	66	ارومیه-۶ Urmia6	187761	130	سبزوار-۵ Sabzvar5	188316
2	ملایر-۱ Malayer1	187457	67	ارومیه-۷ Urmia7	187763	131	سبزوار-۸ Sabzvar8	188328
3	اراک-۱ Arak1	187458	68	لنجان-۲ Lenjan2	187775	132	سبزوار-۱۰ Sbzvar10	188337
4	دره‌گز-۱ Dareh-Gaz1	187464	69	اصفهان-۴ Esfahan4	187776	133	یزد-۶ Yazd6	188341
5	قزوین-۳ Gazvin3	187491	70	اصفهان-۵ Esfahan5	187777	134	سبزوار-۱۱ Sabzvar11	188344
6	گیلان‌غرب-۱ Gilane-Gharb1	187493	71	اصفهان-۶ Esfahan6	187779	135	سبزوار-۱۲ Sabzvar12	188353
7	گیلان‌غرب-۲ Gilane-Gharb2	187494	72	مشهد-۱ Mashhad1	187781	136	فریدان-۳ Feridan3	188362
8	ایلام-۱ Ilam1	187500	73	قوچان-۴ Ghoochan4	187786	137	نجف‌آباد-۴ Najaf-Abad4	188372
9	ایلام-۲ Ilam2	187501	74	نجف‌آباد-۱ Najaf-Abad1	187791	138	قوچان-۱۰ Ghoochan10	188376
10	ملایر-۲ Malayer2	187506	75	تربت‌جام-۳ Torbat-Jam3	187794	139	اصفهان-۱۲ Esfahan12	188377
11	کاشمر-۱ Kashmar1	187520	76	تربت‌جام-۴ Torbat-Jam4	187795	140	اردکان-۴ Ardakan4	188380
12	کاشمر-۲ Kashmar2	187521	77	دامغان-۱ Damghan1	187799	141	مشهد-۸ Mashhad8	188381
13	سبزوار-۱ Sabzvar1	187522	78	اسلام‌آبادغرب-۲ Shah-Abad2	187800	142	مشهد-۹ Mashhad9	188382
14	سبزوار-۲ Sabzvar2	187526	79	سنندج-۲ Sanandaj2	187803	143	سبزوار-۱۶ Sabzvar16	188386
15	اردکان-۱ Ardakan1	187527	80	زنجان-۱ Zanjan1	187805	144	مشهد-۱۱ Mashhad11	188391
16	سبزوار-۳ Sabzvar3	187531	81	اصفهان-۷ Esfahan7	187817	145	مشهد-۱۲ Mashhad12	188393
17	تربت‌جام-۱ Torbat-Jam1	187538	82	خونسار-۱ Khonsar1	187722	146	قوچان-۱۱ Ghoochan11	188394
18	قوچان-۱ Ghoochan1	187539	83	دامغان-۲ Damghan2	187825	147	نیشابور-۴ Neishabour4	188399
19	اصفهان-۱ Esfahan1	187540	84	تربت‌جام-۵ Torbat-Jam5	187826	148	بجنورد-۷ Bojnourd7	188400
20	اردکان-۲ Ardakan2	187542	85	اصفهان-۸ Esfahan8	187844	149	شهرکرد-۳ Shahre-Kord3	188402
21	نیشابور-۱ Neishabour1	187547	86	اصفهان-۹ Esfahan9	187846	150	نیشابور-۵ Neishabour5	188409
22	اصفهان-۲ Esfahan2	187554	87	بروجرد-۱ Borujerd1	187847	151	نیشابور-۶ Neishabour6	188410
23	بجنورد-۱ Bojnourd1	187561	88	ارومیه-۸ Urmia8	187852	152	بجنورد-۹ Bojnourd9	188413
24	بیرجند-۱ Birjand1	187573	89	مشهد-۵ Mashhad5	187860	153	نیشابور-۷ Neishabour7	188421
25	بجنورد-۲ Bojnourd2	187575	90	بیرجند-۵ Birjand5	187868	154	نیریز-۲ Niriz2	188446

Table 1. Continued				جدول ۱- ادامه				
ردیف Row	منطقه Area	GID	ردیف Row	منطقه Area	GID	ردیف Row	منطقه Area	GID
26	تربت حیدریه-۱ Torbat-Heidar1	187575	91	بیرجند-۶ Birjand6	187888	155	شاهرود-۴ Shah-Roud4	188447
27	بروجن-۱ Borujen1	187578	92	بیرجند-۷ Birjand7	187889	156	سنندج-۷ Sanandaj7	373480
28	یزد-۱ Yazd1	187587	93	فریدان-۲ Feridan2	187891	157	اصفهان-۱۳ Esfahan13	373500
29	یزد-۲ Yazd2	187592	94	طبس-۱ Tabas1	188044	158	بروجن-۵ Borujen5	373502
30	شهرکرد-۱ Shahre-Kord1	187593	95	میمه-۱ Meimeh1	188048	159	تربت حیدریه-۳ Torbat-Heidar3	373505
31	شهرضا-۱ Shahreza1	187604	96	میمه-۲ Meimeh2	188049	160	بروجن-۶ Borujen6	373511
32	شهرضا-۲ Shahreza2	187605	97	اصفهان-۱۰ Esfahan10	188052	161	آستارا-۱ Astara1	373549
33	شهرضا-۲ Shahreza2	187605	98	میمه-۳ Meimeh3	188059	162	قائم شهر-۱ Shahi1	373568
34	شیروان-۱ Shirvan1	187607	99	اصفهان-۱۱ Esfahan11	188066	163	اصفهان-۱۴ Esfahan14	373569
35	شهرضا-۳ Shahreza3	187617	100	سمنان-۱ Semnan1	188070	164	فریمان-۱ Fariman1	373579
36	بروجن-۳ Borujen3	187620	101	نجف‌آباد-۳ Najaf-Abad3	188077	165	گناباد-۱ Gonabad1	373660
37	بروجن-۴ Borujen4	187621	102	سقز-۱ Saghez1	188102	166	اسلام‌آبادغرب-۶ Shah-Abad6	373681
38	یزد-۳ Yazd3	187639	103	قزوین-۴ Gazvin4	188103	167	قزوین-۹ Gazvin9	373684
39	یزد-۴ Yazd4	187640	104	قزوین-۵ Gazvin5	188111	168	سبزوار-۱۷ Sabzvar17	373691
40	شهرضا-۴ Shahreza4	187641	105	قزوین-۷ Gazvin7	188114	169	اردکان-۵ Ardakan5	373692
41	بیرجند-۴ Birjand4	187643	106	سقز-۲ Saghez2	188116	170	بجنورد-۱۱ Bojnourd11	373695
42	ورامین-۱ Varamin1	187645	107	اسلام‌آبادغرب-۵ Shah-Abad5	188117	171	شهرکرد-۵ Shahre-Kord5	373698
43	سمیرم-۲ Semrom2	187647	108	بیرجند-۸ Birjand8	188144	172	تربت حیدریه-۴ Torbat-Heidar4	373703
44	شهرضا-۵ Shahreza5	187653	109	سمیرم-۳ Semrom3	188168	173	نائین-۱ Naein1	373711
45	شهرضا-۶ Shahreza6	187655	110	اردستان-۱ Ardestan1	188174	174	شهرکرد-۶ Shahre-Kord6	373713
46	شیراز-۱ Shiraz1	187660	111	رفسنجان-۱ Rafsanjan1	188197	175	سمیرم-۴ Semrom4	373715
47	نیریز-۱ Niriz1	187679	112	تربت جام-۷ Torbat-Jam7	188205	176	کرمانشاه-۵ Kermanshah5	373747
48	شیراز-۴ Shiraz4	187684	113	نیشابور-۳ Neishabour3	188224	177	سنجابی-۲ Sanjabi2	373761
49	هشتروند-۱ Hasht-Rood1	187691	114	شیروان-۲ Shirvan2	188226	178	بیرجند-۱۰ Birjand10	373766
50	کرمان-۱ Kerman1	187695	115	قصر شیرین-۱ Ghasre-Shirin1	188234	179	بجنورد-۱۲ Bojnourd12	373771

Table 1. Continued						جدول ۱- ادامه		
ردیف Row	منطقه Area	GID	ردیف Row	منطقه Area	GID	ردیف Row	منطقه Area	GID
51	ارومیه-۳ Urmia3	187702	116	قصر شیرین-۲ Ghasre-Shirin2	188235	180	کاشمر-۵ Kashmar5	373774
52	ارومیه-۴ Urmia4	187703	117	گیلان غرب-۳ Gilane-Gharb3	188237	181	همدان-۷ Hamedan7	2436876
53	کرمان-۲ Kerman2	187706	118	ماهی دشت-۱ Mahidasht1	188240	182	فریمان-۲ Fariman2	373724
54	سیرجان-۱ Sirjan1	187708	119	کرمانشاه-۲ Kermanshah2	188245	183	بجنورد-۱۳ Bojnourd13	2436900
55	کرمان-۳ Kerman3	187709	120	اسلام آباد غرب-۱ Shah-Abad-Gharb1	188249	184	نیریز-۴ Niriz4	2436906
56	کرمان-۴ Kerman4	187710	121	ساوه-۲ Saveh2	188250	185	ارومیه-۹ Urmia9	147445
57	شهرضا-۷ Shahreza7	187714	122	همدان-۲ Hamedan2	188251	186	بابل-۱ Babol1	2436913
58	گرمی-۱ Garmi1	187721	123	کرمانشاه-۳ Kermanshah3	188258	187	اصفهان-۱۷ Esfahan17	2436914
59	ارومیه-۵ Urmia5	187724	124	مراغه-۱ Maragheh1	188260	188	دامغان-۳ Damghan3	2436917
60	اردبیل-۲ Ardabil2	187725	125	کرمانشاه-۴ Kermanshah4	188262	189	قزوین-۱۲ Gazvin12	188462
61	تبریز-۱ Tabriz1	187729	126	سنجایی-۱ Sanjabi1	188264	190	همدان-۸ Hamedan8	190475
62	میانه-۱ Mianeh1	187730	127	دیوان دره-۱ Divan-Dareh1	188266	191	قزوین-۱۳ Gazvin13	188462
63	بندرعباس-۱ Bandar-Abbas1	187733	128	نهایوند-۱ Nahavand1	188270	192	همدان-۹ Hamadan9	190475
64	لنجان-۱ Lenjan1	187755	129	تویسرکان-۱ Toyserkan1	188272	193	تاچر Thatcher	
65	اصفهان-۳ Esfahan3	187755	130	همدان-۳ Hamedan3	188292			

جدول ۲- نام، توالی، جایگاه کروموزومی و دمای اتصال آغازگرهای مورد استفاده

Table 2. Name, sequences, chromosomal location and annealing temperature of the used primers

آغازگر Primer	توالی (۵'-۳') Sequence (5'-3')	مکان کروموزومی Chromosomal 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 TGACCTAGCAAGACGTTGCCA	1DS	64
Glu3D.3	ATGGAGACTAGATGCATCCCT AGATTGGATGGAACCCTGAAC	1DS	56
Glu3D.4	ATGGAGACTAGCTGCATCT	1DS	62

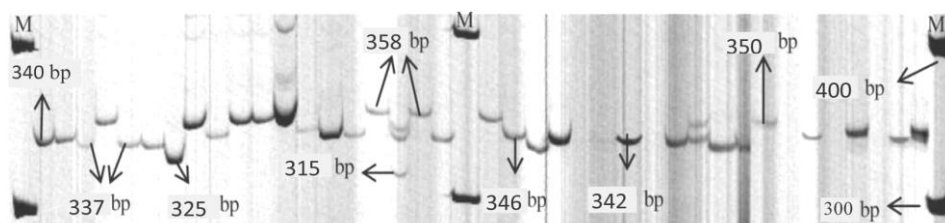
جفت آغازگر Glu3B.2

دو قطعه ۴۴۰ و ۴۲۱ جفت بازی با این جفت آغازگر تکثیر شد (شکل ۳). رقم Thatcher دارای آلل ۴۴۰ جفت بازی بود. قطعه ۴۴۰ جفت بازی با ۷۴/۶ درصد بیشترین و قطعه ۴۲۱ جفت بازی با ۲۵/۴ درصد کمترین فراوانی را داشتند. ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2007) تأثیر معنی‌دار زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین را در مکان *Glu-B3* روی کیفیت محصولات نهایی گندم را گزارش نمودند. با توجه به اینکه درصد بالایی از گندم‌های پاییزه ایران حاوی آلل ۴۴۰ جفت بازی می‌باشند، پیشنهاد می‌شود از ارتباط این آلل با پارامترهای کیفیت در شناسایی ارقام مرغوب در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود. لی و همکاران (Li *et al.*, 2012) نیز برای این گروه سه آلل با اندازه‌های ۴۵۰، ۴۷۵ و ۵۰۰ جفت باز در ۶۸ ژنوتیپ بومی *T. turgidum* چین گزارش کردند. تنه‌ایان و همکاران (Tanhaiyan *et al.*, 2009) در مطالعه تنوع آلی مکان ژنی *Glu-B3* در ۶۲ ژنوتیپ گندم زراعی ایران با استفاده از آغازگر *Glu3B.2*، چهار آلل با محدوده تقریبی ۴۵۰-۵۵۰ جفت باز شناسایی کردند.

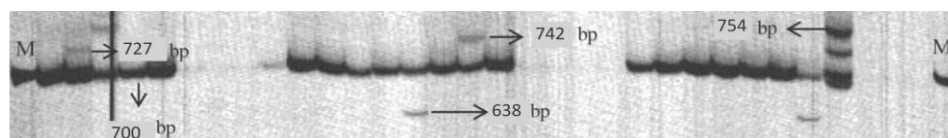
حسینیان خوشرو و همکاران (Hoseinian-Khoshru *et al.*, 2010) در بررسی تنوع آلی زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین در ۶۲ ژنوتیپ تجاری گندم نان، چهار آلل با اندازه تقریبی ۳۰۰-۴۰۰ جفت باز را شناسایی کردند. در مقایسه می‌توان گفت که هشت آلل شناسایی شده در این پژوهش نشان‌دهنده تنوع بالاتر ارقام پاییزه مطالعه شده بومی ایران هستند.

جفت آغازگر Glu3A.3

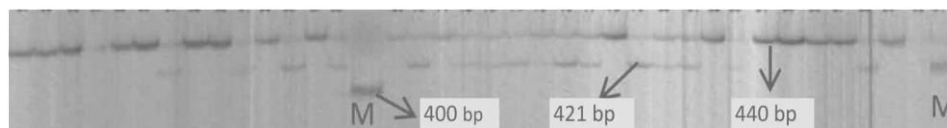
جفت آغازگر *Glu3A.3* منجر به تکثیر پنج آلل با اندازه‌های ۷۵۴، ۷۴۲، ۷۲۷، ۷۰۰ و ۶۳۸ جفت باز به ترتیب با فراوانی ۲، ۰/۶، ۱/۵، ۹۲/۱ و ۳/۸ درصد شد (شکل ۲). رقم Thatcher دارای آلل ۷۵۴ جفت بازی بود. لانگ و همکاران (Long *et al.*, 2005) توسط این جفت آغازگر، یک قطعه ۶۸۰ جفت بازی در ۲۷ نمونه گندم دیپلوئید گزارش کردند. لی و همکاران (Li *et al.*, 2012) در مطالعه تنوع ژنتیکی ژن‌های LMW-GS در ۶۸ ژنوتیپ *T. turgidum* چینی، دو آلل با اندازه‌های حدود ۷۰۰ و بزرگتر از ۷۰۰ جفت باز به ترتیب با فراوانی ۹۸/۵ و ۱/۵ درصد تکثیر کردند.



شکل ۱- قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگر *Glu3A.2* در تعدادی از ژنوتیپ‌های بومی گندم ایران
Figure 1. The amplified fragments using *Glu3A.2* primer in some Iranian wheat landraces



شکل ۲- قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگر *Glu3A.3* در تعدادی از ژنوتیپ‌های بومی گندم ایران
Figure 2. The amplified fragments using *Glu3A.3* primer in some Iranian wheat landraces



شکل ۳- آلل‌های تکثیر شده توسط جفت آغازگر *Glu3B.2* در تعدادی از ژنوتیپ‌های بومی گندم ایران
Figure 3. The amplified fragments using *Glu3B.2* primer in some Iranian wheat landraces

Thatcher قطعه‌ای با استفاده از این جفت آغازگر تکثیر نشد. در مطالعه تنوع آللی زیرواحدهای گلوٲنین با وزن مولکولی پایین در ۱۶ ژنوتیپ گندم تتراپلوئید بومی ایران، آلل ۶۰۰ جفت بازی با فراوانی ۳۷/۵ درصد گزارش شده است (Amini *et al.*, 2012). حسینیان خوشرو و همکاران (Hoseinian-Khoshru *et al.*, 2010) با استفاده از آغازگر Glu3D.3 در ۶۲ ژنوتیپ تجاری گندم نان، هفت آلل در محدوده ۶۵۰-۵۵۰ جفت باز تکثیر کردند. آلل‌های شناسایی شده در این پژوهش نشان دادند که گندم‌های بومی پاییزه ایران منابع ژنتیکی با ارزش از نظر تنوع آللی ژن‌های LMW-GS هستند و می‌توان از آن‌ها برای بالا بردن کیفیت گندم در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

جفت آغازگر Glu3D.2

جفت آغازگر Glu3D.2 سه قطعه با اندازه‌های ۵۷۸، ۵۵۸ و ۳۸۲ جفت باز در گندم بومی پاییزه ایرانی تکثیر کرد (شکل ۴). در رقم Thatcher قطعه‌ای با استفاده از این جفت آغازگر تکثیر نشد. آلل‌های ۵۷۸، ۵۵۸ و ۳۸۲ جفت بازی به ترتیب دارای فراوانی ۱/۷، ۸۸/۱ و ۱۰/۲ درصد بودند.

جفت آغازگر Glu3D.3

با استفاده از جفت آغازگر Glu3D.3 شش آلل تکثیر شد. قطعات تکثیری دارای اندازه ۶۱۱، ۶۰۵، ۶۰۰، ۵۹۴، ۵۹۲ و ۵۸۹ جفت باز به ترتیب با فراوانی ۲۷/۹، ۱۸، ۲۵/۶، ۱۳/۹، ۱۳/۴ و ۱/۲ درصد بودند (شکل ۵). در رقم

جدول ۳- پارامترهای ژنتیکی برآورد شده برای جفت آغازگرهای چند شکل

Table 3. The estimated genetic parameters for polymorphic primers

آغازگر Primer	فراوانی آلل شایع Major allele frequency	تنوع ژنی Gene diversity	محتوای اطلاعات چندشکلی PIC	هتروزیگوسیتی Heterozygosity
Glu3A.2	0.37	0.78	0.75	0.09
Glu3A.3	0.92	0.15	0.15	0.16
Glu3B.2	0.75	0.38	0.31	0.20
Glu3D.2	0.88	0.21	0.20	0.08
Glu3D.3	0.28	0.77	0.75	0.01
میانگین Mean	0.80	0.26	0.24	0.06

(۰/۷۵) با متوسط ۰/۲۴ برآورد شد. تنوع ژنی با میانگین ۰/۲۶ در دامنه ۰/۱۵ برای جفت آغازگر Glu3A.3 تا ۰/۷۸ برای جفت آغازگر Glu3A.2 متغیر بود. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده از ۰/۰۱ برای جفت آغازگر Glu3D.3 تا ۰/۱۶ برای جفت آغازگر Glu3A.3 با متوسط ۰/۰۶ برآورد شد (جدول ۳). میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده نشان می‌دهد که این پارامتر در مکان ژنی *Glu-B3* بالاتر از مکان‌های ژنی *Glu-A3* و *Glu-D3* و میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در مکان ژنی *Glu-A3* بیشتر از مکان ژنی *Glu-D3* بود. لی و همکاران (Li *et al.*, 2012) نیز همانند این تحقیق، تنوع ژنتیکی در مکان ژنی *Glu-B3* را بالاتر از مکان ژنی *Glu-A3* در ارقام بومی چین را گزارش کردند.

جفت آغازگر Glu3D.4

توسط جفت آغازگر Glu3D.4 فقط یک قطعه با اندازه ۷۰۰ جفت باز در گندم‌های پاییزه ایران و رقم Thatcher تکثیر شد (شکل ۶). امینی و همکاران (Amini *et al.*, 2012) در مطالعه تنوع آللی زیرواحدهای گلوٲنین با وزن مولکولی پایین در ۱۶ ژنوتیپ گندم تتراپلوئید بومی ایران، دو آلل با اندازه‌های ۷۰۰ و ۷۵۰ جفت باز برای این آغازگر گزارش کردند.

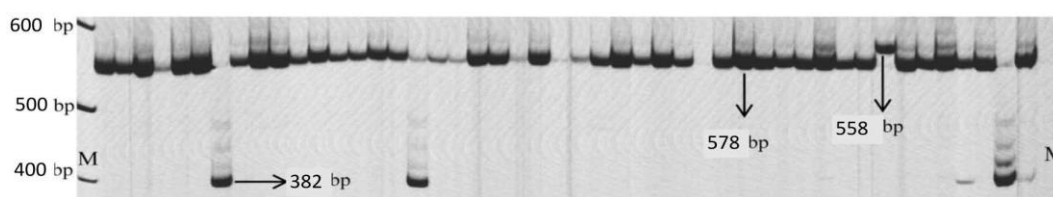
پارامترهای ژنتیکی جفت آغازگرها

میانگین فراوانی آلل شایع (آلی که بیشترین فراوانی را در بین آلل‌های تکثیر شده توسط یک جفت آغازگر دارد) برای جفت آغازگرهای چندشکل، ۰/۸ و در محدوده ۰/۲۸ برای جفت آغازگر Glu3D.3 و ۰/۹۲ برای جفت آغازگر Glu3A.3 به دست آمد. حداقل و حداکثر PIC به ترتیب مربوط به آغازگر Glu3A.3 (۰/۱۵) و Glu3A.2

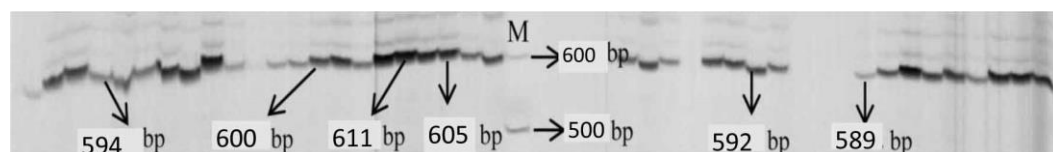
هوایی نیست و زارعین در هر منطقه علاوه بر گزینش برای عملکرد بالا، گزینش برای کیفیت نانویی مطلوب را نیز انجام داده‌اند. مطالعه تنوع زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین در ۲۳ جمعیت از *Aegilops triuncialis* با روش SDS-PAGE و گروه‌بندی جمعیت‌ها نشان داد که میزان تنوع ژنتیکی از توزیع جغرافیایی تبعیت نمی‌کند (Ghavebazu *et al.*, 2011). می‌توان از تنوع وسیع موجود در داخل جمعیت‌های این تحقیق به عنوان منابع ژنتیکی مناسب و باارزش برای اصلاح خصوصیات کیفی گندم نان متناسب با هرمنطقه استفاده کرد.

تجزیه واریانس مولکولی بر اساس آغازگرهای اختصاصی ژن‌های LMW-GS

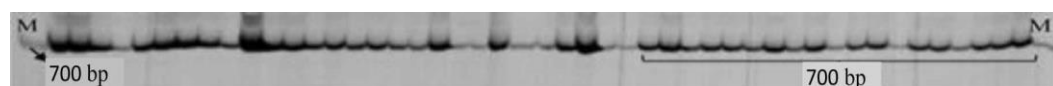
برای بررسی رابطه تنوع آلی ژن‌های LMW-GS، گندم‌های پاییزه ایران بر اساس مناطق آب و هوایی کشور به پنج گروه شامل مناطق سرد، کوهستانی، معتدل، گرم و خشک تقسیم و تجزیه واریانس مولکولی انجام شد. نتایج نشان داد که واریانس درون و بین گروهی به ترتیب ۹۴ و ۶ درصد واریانس کل مولکولی را تبیین کردند. این نتیجه نشان می‌دهد که تنوع آلی آغازگرهای اختصاصی ژن‌های LMW-GS (مرتبط با کیفیت نانویی) تابع شرایط آب و



شکل ۴- قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3D.2 در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم بومی ایران.
Figure 4. The amplified fragments using Glu3D.2 primer in some Iranian wheat landraces



شکل ۵- قطعات تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3D.3 در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم بومی ایران.
Figure 5. The amplified fragments using Glu3D.3 primer in some Iranian wheat landraces.

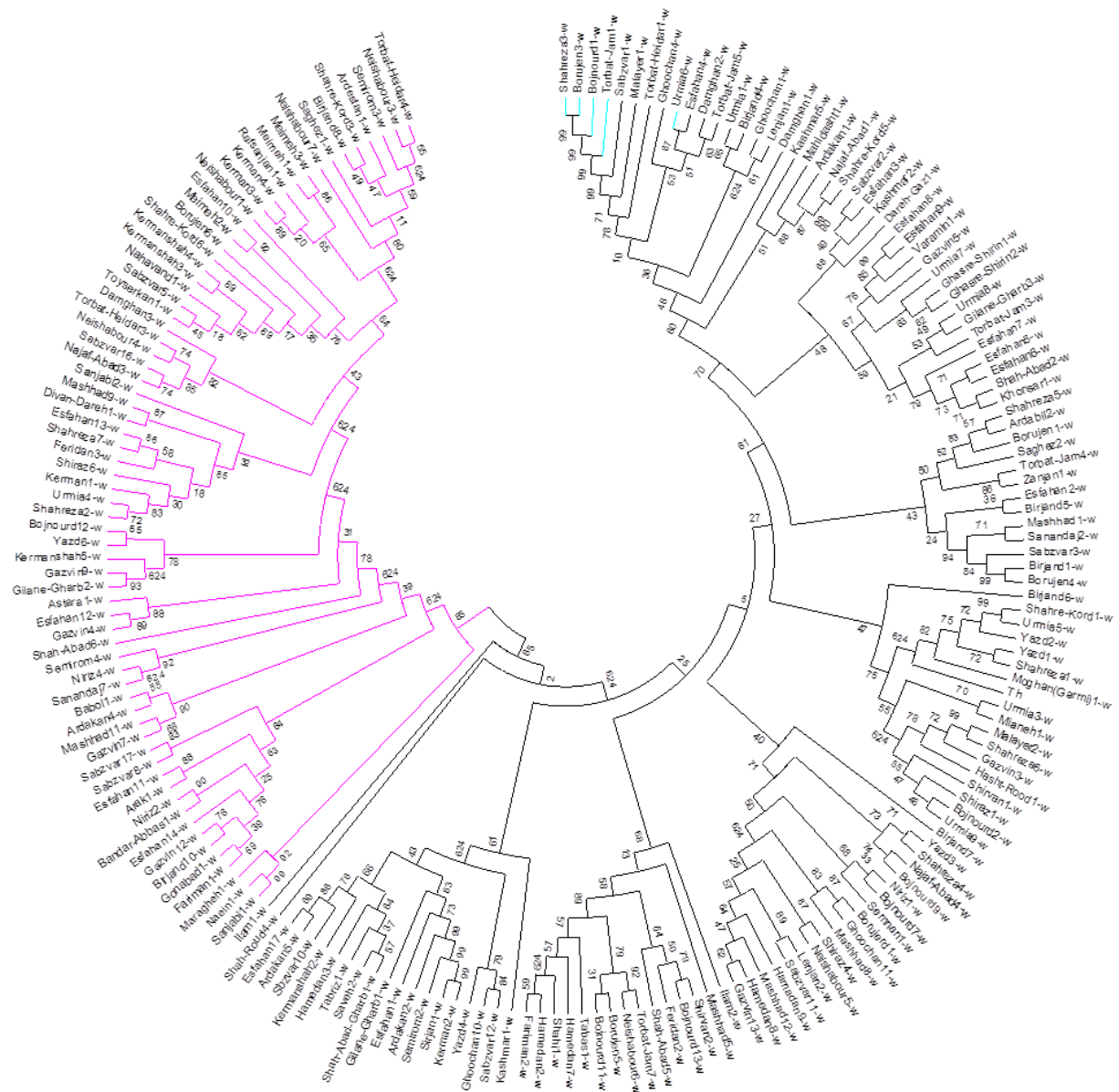


شکل ۶- قطعه تکثیر شده توسط جفت آغازگر Glu3D.4 در تعدادی از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه
Figure 6. The amplified fragments using Glu3D.4 primer in some Iranian wheat landraces

در گندم‌های بومی مطالعه شده پیدا کرد. به طور مثال، ژنوتیپ‌های ارومیه ۱، بروجن ۳، شاه رضا ۳ و بجنورد ۱ در یک گروه قرار گرفتند که به ترتیب به مناطق سرد، کوهستانی، معتدل و خشک تعلق دارند. این نشان می‌دهد که ارقام پاییزه با داشتن شرایط بومی، تنوع قابل توجهی دارند که می‌توان از این تنوع در برنامه‌های اصلاحی جهت بهبود کیفیت نان و استفاده از ارقام با کیفیت در کشت و صنعت استفاده کرد.

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از داده‌های حاصل از جفت آغازگرهای اختصاصی

برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از الگوریتم Neighbor-Joining و ضریب فاصله No. of difference استفاده شد. با توجه به اعداد Bootstrap. بیشترین تمایز بین گروه‌ها در محل برش دندروگرام با دو گروه اصلی ایجاد شد (شکل ۷). با توجه به شکل و نحوه قرارگیری ژنوتیپ‌ها در گروه‌ها نمی‌توان رابطه مشخصی بین تنوع آلی ژن‌های LMW-GS و شرایط آب و هوایی



شکل ۷- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های حاصل از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های LMW
 Figure 7. Genotype grouping based LMW-GS specific primers

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به وجود تنوع ژنتیکی بالا در گندم‌های پاییزه مطالعه شده در این تحقیق می‌توان این ژنوتیپ‌ها را به‌عنوان منبع با ارزش تنوع ژنی با هدف بهبود کیفیت محصولات حاصل از گندم در برنامه‌های به‌نژادی مورد

استفاده قرار داد. این مطالعه یک تحقیق پایه‌ای برای اصلاح گندم‌های ایرانی محسوب می‌شود و در تحقیقات آتی با انجام توالی‌یابی و شناسایی آل‌ل‌های جدید و تجزیه ارتباطی داده‌های مولکولی و صفات کیفی می‌توان آن‌ها را به‌عنوان ژن‌های جدید در گندم‌های بومی ایران ثبت کرد.

References

- Amini, M., Ahmadi, J., Naghavi, M. and Hosseini, R. 2012.** Allelic diversity of low-molecular-weight glutenin subunit genes in tetraploid genotypes of Iranian wheat using specific markers. Proceeding of 12th Iranian Genetics Congress. May 22-24, Shahid Beheshti University, Iran. pp: 1-5. (In Persian).
- Arzani, A. 2001.** Breeding field crops. Esfahan University Publications. (In Persian).
- Cassidy, B. G., Dvorak, J. and Anderson, O. D. 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: 743-750.
- Cornish, G. B., Bekes, F., Allen, H. M. and Martin, D. J. 2001.** Flour-proteins linked to quality traits in an Australian doubled haploid wheat population. **Australian Journal of Agricultural Research** 52: 1339-1348.
- 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.
- Gale, K. R. 2005.** Diagnostic DNA markers for quality traits in wheat. **Journal of Cereal Science** 41: 181-192.
- Ghabebaz, F., Asgharizakaria, R. and Jahanbakhsh, S. 2011.** The study of diversity glutenin subunits in *Agilops triuncialis* using SDS-PAGE. Proceeding of 1th National Conference on economic resolutions in the field of Agriculture and natural resources. December 15-16, Ghom, Iran. (In Persian).
- Gupta, R. B. 1989.** Low-molecular-weight subunits of glutenin in wheat and related species: Their characterization genetics and relation to bread-making quality. Ph. D. Dissertation, University of Adelaide, Australia.
- Gupta, R. B. and Shephard, K. W. 1990.** Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutelin: 2. Genetic control of the subunits in species related to wheat. **Theoretical and Applied Genetics** 80: 183-187.
- Harberd, N. P., Bartels, D. and Thompson, R. D. 1985.** Analysis of the gliadin multigene loci in bread wheat using nullisomic-tetrasomic lines. **Molecular and General Genetics** 198: 234-242.
- Hoseinian Khoshru, H., Bihamta, M. R., Hassani, M. and Omid, M. 2010.** Allelic variation of low-molecular-weight glutenin subunits genes in commercial genotypes Iranian bread wheat using specific markers. **Iranian Journal of Field Crop Science** 41: 345-354. (In Persian with English Abstract).
- Li, W., Gao, Z., Wei, Y. M., Pu, Z. E., Chen, G. Y., Liu, Y. X., Chen, H. P., Lan, X. J. and Zheng, Y. L. 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: 2025-2033.
- Long, H., Wei, Y. M., Yan, Z. H., Baum, B., Nevo, E. and Zheng, Y. L. 2005.** Classification of wheat low-molecular-weight glutenin subunit genes and its chromosome assignment by developing LMW-GS group-specific primers. **Theoretical and Applied Genetics** 111: 1251-1259.
- Liu, K. and Muse, S. V. 2005.** PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. **Bioinformatics** 21: 2128-2129.
- Long, H., Huang, Z., Wei, Y. M., Yan, Z. H., Ma, Z. C. and Zheng, Y. L. 2008.** Length variation of i-type low-molecular-weight glutenin subunit genes in diploid wheats. **Russian Journal of Genetics** 44: 429-435.
- Ma, W., Appels, R., Bekes, F., Larroque, O., Morell, M. K. and Gale, K. R. 2005.** Genetic characterisation of dough rheological properties in a wheat doubled haploid population: Additive genetic effects and epistatic interactions. **Theoretical and Applied Genetics** 111: 410-422.
- Nei, M. 1973.** Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 70: 3321-3323.
- Peakall, R. and Smouse, P. E. 2006.** GENALEX 6.4. Genetic analysis in excel: Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes** 6: 288-295.
- Payne, P. I., Corfield, K. G. and Blackman, J. A. 1981.** Correlation between the inheritance of certain high-molecular-weight subunit of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 32: 51-60.

- Saghai Maroof, M. A., Solaiman, K., Tprgensen, R. A. and Allard, R. W. 1984.** Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barely: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 81: 8014-8018.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2011.** MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software, version 5.0. **Molecular Biology and Evolution** 24: 1596-1599.
- Tanaka, H., Toyoda, S. and Tsujimoto, H. 2005.** Diversity of low-molecular-weight glutenin subunit genes in Asian common wheat (*Triticum aestivum* L.). **Breeding Science** 55: 349-354.
- Tanhaiyan, A., Shahriari, F., Marashi, S. H. and Dehghan, E. 2009.** Study of allelic variation at *Glu-B3* locus of the Iranian bread wheat cultivars by using ALP molecular marker. **Iranian Journal of Field Crop Research** 7: 367-374. (In Persian with English Abstract).
- Wang, L., Zhao, X., He, Z. and Xia, X. 2008.** Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit genes at *Glu-B3* and *Glu-D3* loci and development of functional markers in common wheat. Proceedings of the 11th International Wheat Genetics Symposium. Sydney University, Australia.
- Zhao, X. L., Ma, W., Gale, K. R., Lei, Z. S., He, Z. H., Sun, Q. X. and Xia, X. C. 2007.** Identification of SNPs and development of functional markers for LMW-GS genes at *Glu-D3* and *Glu-B3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Molecular Breeding** 20: 223-231.



University of Guilan
Faculty of Agricultural
Sciences

Cereal Research
Vol. 6, No. 1, Spring 2016 (65-77)

Allelic diversity of low-molecular-weight glutenin subunit genes in Iranian winter wheat landrace

Fatemeh Shariat¹, Seyyed Abolghasem Mohammadi^{2,3*}, Majid Norouzi⁴ and Mostafa Valizadeh²

Received: February 14, 2015

Accepted: December 21, 2015

Abstract

In the present study, allelic diversity of low-molecular-weight glutenin genes was analyzed in 193 Iranian winter wheat landraces and Thatcher cultivar. Using Glu3A.2 primer pair, eight fragments with size of 315-358 bp were amplified so the fragment of 342 bp with 37.2% and the fragment of 315 bp with 0.6% showed maximum and minimum frequency, respectively. Based on Glu3A.3 primer pair, five fragments with range of 638-754 bp were amplified which the fragment of 700 bp and 742 bp with 92.1% and 0.6% showed maximum and minimum frequency, respectively. Two fragments 440 bp with frequency of 74.6% and 421 bp with frequency of 25.4% were amplified using Glu3B.2 primer pair. Glu3D.2 primer pair amplified three fragments with size of 571, 558 and 382 bp and frequency of 1.7%, 88.1% and 10.2%, respectively. Six fragments with ranging from 589 to 611 bp with frequency of 1.2-27.9% were produced using Glu3D.3 primer pair. Glu3D.4 primer pair amplified only one fragment of 700 bp in the Iranian winter wheat landraces. The PIC value ranged from 0.15 to 0.75 with an average of 0.24 and the gene diversity or expected heterozygosity varied from 0.15 to 0.78 with an average value of 0.26. Cluster analysis based on molecular data using No. of difference distance coefficient and Neighbor-Joining algorithm assigned the Iranian winter wheat varieties into two groups. Analysis of molecular variance (AMOVA) based on climatic conditions (five climatic conditions cold, mountainous, temperate, warm and dry) revealed higher within group variation (94%) compared to between group. The result of this study showed that Iranian wheat landraces could be used as valuable genetic resources in breeding programs to improve bread making quality of wheat.

Keywords: Analysis of molecular variance, Landrace, Specific primers, Storage protein

1. Former M. Sc. Student, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2. Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3. Center of Excellence in Cereal Molecular Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4. Assist. Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

* Corresponding author: mohammadi@tabrizu.ac.ir