

بررسی مولکولی زیرواحدهای سنگین گلوتنین در گندم نان

Molecular study of high molecular weight glutenin subunits in Iranian wheat

تینا کیهانی^۱، علی اکبر شاه نجات بوشهری^{۱*}، محمدرضا نقوی^۱

۱- کارشناسی ارشد، استادان، دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، کرج، ایران

Keyhani T¹, Shahnejat-Bushehri AA^{*1}, Naghavi MR¹

1. Msc Student, Professors, College of Agricultural and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ashah@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۲۷- تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۳)

چکیده

در این تحقیق تنوع زیرواحدهای سنگین گلوتنین (HMW-GS) در مکان‌های ژنی *Glu-1* در ۱۵۴ نمونه از گندم‌های نان بومی موجود در بانک ژن دانشگاه تهران با استفاده از روش SDS-PAGE بررسی شد. مجموعاً ۱۴ ترکیب آللی و ۱۲ آلل تشخیص داده شد که مکان ژنی *GluB1* با تنوع ژنتیکی ۰/۲۷۴ بیشترین فراوانی را در میان سایر مکان‌های ژنی *Glu-1* دارا بود. میانگین کلی امتیاز کیفی گندم‌های نان بر اساس زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در دامنه‌ای بین ۴ تا ۱۰ قرار گرفت. بیشتر نمونه‌های گندم نان مورد بررسی دارای ترکیب آللی به صورت نول، ۷+۸ و ۲+۱۲ در مکان‌های ژنی *Glu-1* بودند. با توجه به نقش مهم زیر واحدهای گلوتنین سنگین به عنوان نشانگر در شناسایی تنوع ترکیبات آللی، نتایج تحقیق حاضر می‌تواند به عنوان یک برآورد ژنتیکی از کیفیت گندم بومی موجود در ایران تلقی شود.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
گلوتنین با وزن مولکولی بالا
گندم نان
SDS-PAGE

مقدمه

تنوع ژنتیکی اساس موفقیت در بهبود خواص غذایی غلات است و می‌توان با روش‌های گوناگونی همچون بررسی مورفولوژیکی صفات و نشانگرهای مولکولی به سادگی آن را شناسایی کرد (He et al. 1991; Metakovsky et al. 1992). دسته‌ای از نشانگرها که می‌توانند در بررسی تنوع ژنتیکی استفاده شوند گلوتهین‌ها هستند. گلوتهین‌ها گروه بزرگی از پروتئین‌های ذخیره در گندم هستند که پلی‌مری متشکل از زیرواحدهای سنگین و سبک است، این گروه از پروتئین‌ها نقش به‌سزایی در فرایند پخت نان و پاستای حاصل از گندم ایفا می‌کنند (Shewry et al. 1989) و سبب قدرت کشسانی خمیر می‌شوند که این کار را با به دام انداختن حباب‌های هوای تشکیل شده توسط مخمرها انجام می‌دهند (Pogna et al. 1989). گلوتهین‌ها با وزن مولکولی بالا مسئول خاصیت کشسانی و استحکام خمیر هستند (Kozub et al. 2009; Afshan et al. 2010). زیرواحدهای پروتئینی با وزن مولکولی بالا، توسط مکان *GLu1* واقع بر روی بازوی بلند کروموزوم‌های گروه یک کد می‌شوند که هر مکان شامل دو ژن کد کننده برای تیپ زیر واحد *x* و تیپ زیر واحدی نوع *y* می‌باشد. به دلیل احتمال تظاهر نیافتن دو زیر واحد *x* و *y* در مکان ژنی *GLuA1* و زیر واحد *y* در مکان ژنی *GLuB1* تنها سه ژن از پنج ژن *HMW-GS* در گندم‌های هگزاپلوئید با کمک روش SDS-PAGE قابل شناسایی و بررسی است (Lawrence et al. 1981; Shewry et al. 2002). تنوع آلی *HMW-GS* تاثیر مهمی بر روی کیفیت آرد دارد، برای مثال زیر واحدهای $1Ax2^*$ و $1Dx5$ و $1Dy10$ رابطه نزدیکی با کیفیت خمیر به خصوص استحکام آن دارند (Payne 1987; Payne et al. 1983). گندم‌هایی با زیر واحدهای $1Bx17$ و $1By18$ استحکام و قدرت بیشتری نسبت به گندم‌هایی با زیر واحدهای $1Bx20x$ و $1By20y$ دارا می‌باشند (Marchylo et al. 1992; Butow et al. 2003). علاوه بر این خصوصیات زیرواحدهای سنگین گلوتهین نشانگرهای مناسبی برای تخمین تنوع ژنتیکی موجود در بین لاین‌ها و گونه‌های مختلف است (Gupta et al. 1994). اخیراً تحقیقات وسیعی در زمینه ترکیبات زیرواحدهای سنگین گلوتهین گندم‌های آسیایی از جمله ایران، پاکستان، افغانستان، چین و تبت صورت گرفته است (Margiotta et al. 1993; Wang et al. 2008).

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

۱۵۴ ژنوتیپ گندم نان بومی ایران به عنوان نمونه در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. ژنوتیپ‌ها از موسسه تحقیقات نهال بذر و بانک ژن دانشگاه تهران بدست آمدند. پروتئین کل ۶ تک دانه از هر ژنوتیپ برای بررسی استخراج شد. واریته‌هایی همانند: ناز (۵+۱۰ و ۱۳+۱۶ و ۱)، بزوستایا-۱ (۵+۱۰ و ۹+۷ و ۲*)، چاینیز اسپرینگ (۱۲+۲ و ۸+۷ و null)، سان استار (۵+۱۰ و ۸+۷ و ۱)، سان الگ (۱۲+۲ و ۸+۷ و ۲*)، گرب (۵+۱۰ و ۹+۷ و null)، گابو (۱۲+۲ و ۱۸+۱۷ و ۲*) و کوک (۱۲+۲ و ۸+۷ و null) به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند (Payne et al. 1983).

آنالیزهای الکتروفورز و روش‌های آماری

بذور بعد از جدا شدن جنین (۶ تک بذر از هر ژنوتیپ) خرد شده و با 62.5 mM بافر استخراج شامل ۱۲ درصد گلیسرول، دو درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۰/۳ درصد برموفنول بلو و ۵ درصد از دو مرکاپتو اتانول مخلوط شدند. سپس نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد در بن ماری قرار داده شدند و سپس به مدت ۵ دقیقه با $10000 \times g$ سانتریفیوژ شدند. در نهایت ۱۵ ml از هر یک از نمونه‌ها بر روی ژل SDS-PAGE بر طبق روش (Laemmli et al. 1970) همراه با اندک تغییرات لود شدند. زیر واحدهای سنگین پروتئین (*HMW-GS*) بر طبق سیستم شماره‌گذاری (Payne et al. 1983) معین شد و تنوع ژنتیکی هر یک از مکان‌های ژنی بر طبق فرمول نی (Nei 1973) $H = 1 - \sum P_i^2$ محاسبه شد، که در این فرمول *H* عبارت است از تنوع ژنتیکی و *Pi* بیانگر فراوانی آلل خاص در مکان‌های ژنی است.

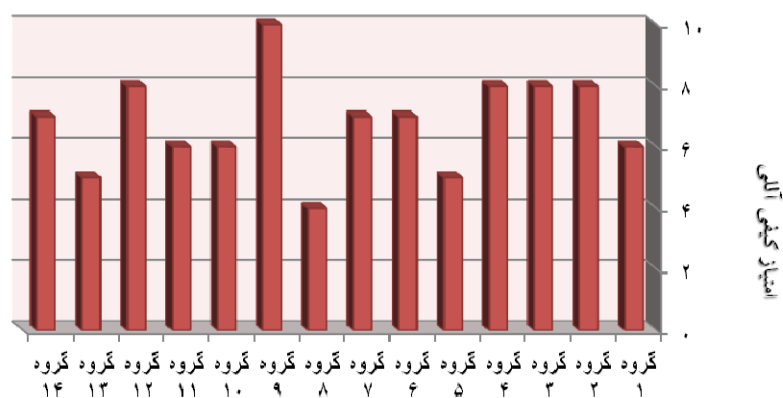
نتایج و بحث

ترکیبات آلی مکان ژنی زیرواحدهای سنگین گلوٲین در هر یک از ۱۵۴ نمونه گندم بومی ایرانی در جدول ۱ نشان داده شده است. نمونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق از نظر ترکیبات آلی به ۱۴ گروه تقسیم شدند (شکل ۱). چهار گروه تنها دارای یک ژنوتیپ بودند و این در حالی بود که بیش‌ترین فراوانی ترکیبات HMW، مربوط به ترکیب زیر واحدهای N، ۷+۸، ۲+۱۲ و ۲*، ۷+۸، ۲+۱۲ بود که به ترتیب در ۱۱۷ و ۷ نمونه بومی مشاهده شدند (جدول ۱). در کل ۱۲ آل متفاوت برای مکان ژنی *Glu1* شناسایی شد که ۳ آل متعلق به مکان *Glu-A1*، ۶ آل متعلق به مکان *Glu-B1* و ۳ آل متعلق به مکان *Glu-D1* بود. در مکان *Glu-A1* فراوانی زیر واحدهای Null، ۲* و ۱ به ترتیب ۸۸، ۵/۱ و ۶/۴ درصد بود. در مکان *Glu-B1* زیر واحدهای ۷+۸، ۷+۹، ۱۳+۱۹، ۱۳+۱۶، ۶+۸ و ۱۴+۱۵ شناسایی شدند که به ترتیب دارای فراوانی ۸۵، ۳/۸، ۱/۹، ۳/۸ و ۳/۲ درصد در گندم‌های بومی مورد بررسی بودند. در مکان ژنی *Glu-D1* زیر واحدهای ۲+۱۲، ۵+۱۰ و ۱۰ شناسایی شدند که دارای فراوانی ۹۳/۵، ۵/۱ و ۱/۲ درصد بودند. در شکل ۲ آل‌ها با بیش‌ترین فراوانی نشان داده شده‌اند. ارزش کیفی زیر واحدهای سنگین گلوٲین در نمونه‌های بومی مورد بررسی در این تحقیق بر اساس روش Payne et al. (1987) نمره داده‌شده که در جدول ۱ آورده شده است. ارزش کیفی نمونه‌های مورد بررسی این تحقیق در دامنه بین ۱۰-۴ قرار گرفتند. میانگین امتیازات کیفی داده شده به نمونه‌های بومی این تحقیق برابر ۷ بود که ۱۵/۵ درصد از نمونه‌ها امتیازی بالاتر از میانگین و ۸۴/۵ درصد از نمونه‌ها امتیازی کمتر از میانگین را داشتند. دلیل اصلی پایین بودن ارزش کیفی در این دسته از نمونه‌ها بالا بودن فراوانی زیر واحد ۲+۱۲ در مکان ژنی *Glu-D1* با مقدار ۹۳/۵ درصد و آل نول در مکان ژنی *Glu-A1* با فراوانی ۸۸ درصد است. آل‌ها ۷+۸ در مکان ژنی *Glu-B1* که با بهتر شدن کیفیت پخت نان در ارتباط است در بیش از ۸۰ درصد نمونه‌های مورد بررسی حضور داشتند.

چهار گروه از ۱۴ گروه شناسایی شده در این تحقیق دارای ترکیبات زیر واحدی منفردی بودند که شامل یک ژنوتیپ در هر

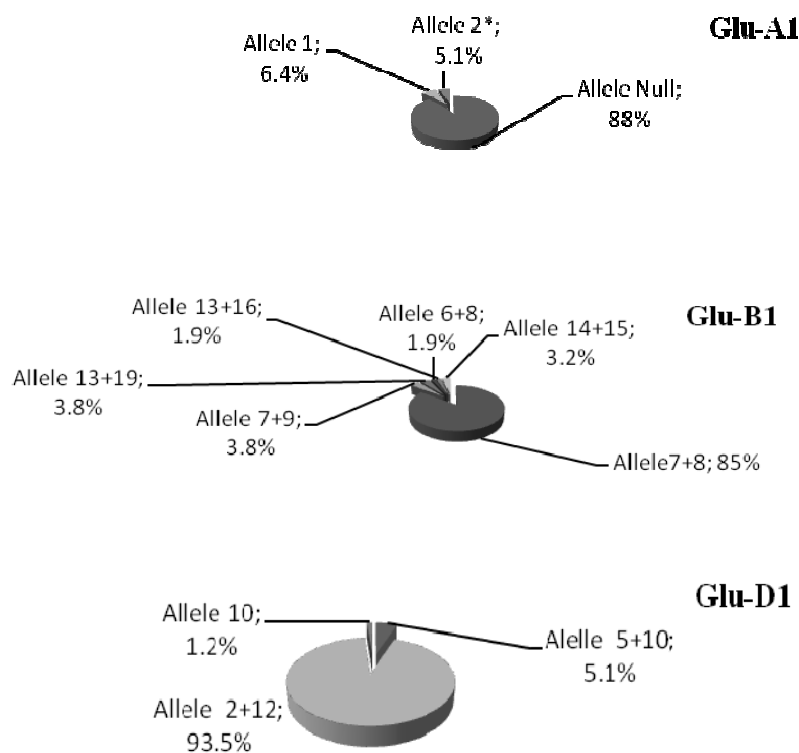
گروه و الگوی باند دهی متفاوتی با بقیه گروه‌ها می‌شد. در تحقیق حاضر شاخص تنوع ژنتیکی برای سه مکان ژنی گلوٲین به طور کلی $H=0.208$ بود (جدول ۲). تنوع ژنتیکی برای مکان‌های ژنی *Glu-A1*، *Glu-B1*، *Glu-D1* به ترتیب عبارت بود از ۰/۲۴۴، ۰/۲۷۴ و ۰/۱۲۸ که تنوع ژنتیکی در مکان ژنی *Glu-D1* همان‌طور که مشاهده می‌شود در مقایسه با سایر مکان‌های ژنی پایین‌تر است. در این مکان زیر واحد ۲+۱۲ در بیش از ۹۰ درصد نمونه‌ها مشاهده شد.

ترکیبات پروٲئین‌های ذخیره‌ای یکی از عناصر پایدار و غیرقابل تغییر در ارقام به شمار می‌آید که به صورت مستقیم می‌تواند بیان گر خصوصیتی از ژنوتیپ‌ها باشد. ارقام گندم مورد استفاده در ایران که برای پخت نان به کار می‌روند به طور کلی از کیفیت پایینی از نظر ترکیبات آلی HMW-GS برخوردارند که این موضوع بر اساس الگوی امتیاز دهی (Payne et al. 1987) نشان داده شده است. به طور کلی آل نول در اکثر ارقام گندم حالتی غالب را داراست (Payne et al. 1983; Tahir et al. 1996; Bushehri et al. 2006; Fang et al. 2009; Sramkova et al. 2009) این در حالی است که در مکان ژنی *Glu-A1* زیر واحدهای ۱ و ۲* که با بهبود کیفیت پخت ارتباط نزدیکی دارند در کلیه ارقام آمریکایی و کانادایی، ۹۸ درصد از ارقام آرژانتینی، ۹۱ درصد از ارقام روسی و ۷۵ درصد از ارقام یوگسلاوی، حضور دارند (Rabinovich et al. 1989; Knežević et al. 1993; Bushuk et al. 1997). این نتایج کاملاً با نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق که آل نول در بیش‌تر نمونه‌ها (۸۸ درصد) شناسایی شده مغایرت دارد. تحقیقات گذشته نشان دادند که ارقام تجاری ایران دارای فراوانی ۴۶ درصدی از آل نول هستند (Bushehri et al. 2006). با این وجود این اطلاعات می‌توان دلیل متوسط بودن استحکام و کشسان خمیر را در هنگام پخت گندم های نان ایرانی اثبات کرد (Dong et al. 1991; Margiotta et al. 2003; Branlard et al. 1993) بیش‌ترین فراوانی HMW-GS در مکان ژنی *Glu-B1* نمونه‌های بومی مورد بررسی مربوط به زیر واحدهای ۷+۸ و ۷+۹ با مقادیر ۸۵ درصد و ۳/۸۹ درصد بود که قابل مقایسه با نتایج گزارش شده از گندم‌های چینی هستند (Fnag et al. 2009).



گروه بندی نمونه ها

شکل ۱- نتایج مربوط به گروه بندی ترکیبات آللی و ارزش کیفی آلل ها در هر گروه از گندم نان



شکل ۲- فراوانی نسبی زیرواحدهای مکان ژنی *Glu1* ۱۵۴ نمونه گندم نان مورد بررسی.

جدول ۱- نتایج مربوط به کیفیت آلی ۱۵۴ نمونه گندم نان مورد بررسی

<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	تعداد نمونه	امتیاز کلی
N	۷+۸	۲+۱۲	۱۱۷	۶
۲*	۷+۸	۲+۱۲	۷	۸
۱	۷+۸	۲+۱۲	۶	۸
۱	۷+۸	۱۰	۱	۸
N	۷+۹	۲+۱۲	۴	۵
۱	۷+۹	۲+۱۲	۱	۷
۱	۷+۹	۱۰	۱	۷
N	۶+۸	۲+۱۲	۳	۴
۲*	۱۳+۱۶	۵+۱۰	۱	۱۰
N	۱۳+۱۶	۲+۱۲	۲	۶
N	۱۳+۱۹	۲+۱۲	۲	۶
N	۱۳+۱۹	۵+۱۰	۴	۸
N	۱۴+۱۵	۲+۱۲	۲	۵
N	۱۴+۱۵	۵+۱۰	۳	۷

روسی ۴۶ درصد ارقام اوکراینی (Bushuk1997; Rabinovich) 1989 و ۷۳ درصد از ارقام گندم نان ایتالیایی، به اثبات رسیده است (Dessalegn et al. 2011). این در حالی است که این نتایج در تقابل با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضرند. پایین بودن ارزش کیفی بدست آمده از ژنوتیپ‌های بومی ایرانی غیرقابل انتظار نیستند زیرا عمده نان مورد استفاده در ایران به صورت مسطح است. نان‌های مسطح در مقایسه با نان‌های حجیم نیازمند خمیری با استحکام و کشسانی متوسط‌تری هستند. به علاوه بیش ترین برنامه‌های اصلاحی و تحقیقاتی انجام شده بر روی گندم های نان در ایران، تنها بر روی عملکرد و مقاومت گیاه در مقابل تنش‌های زنده و غیر زنده استوار است. این تحقیق و تحقیقات مشابه گذشته (Bushehri et al. 2006) بیان‌گر تنوع آلی در پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در گندم است. با مورد توجه قرار دادن ضایعات بالای نان‌های مسطح در ایران، می‌بایست روش‌های

زیر واحدهای ۱۳+۱۹، ۱۴+۱۵ و ۶+۸ در نمونه‌های بومی به ترتیب دارای فراوانی ۳/۸۹، ۳/۲۴ و ۱/۹ درصد بودند که نادر بودن زیر واحدهای مذکور یک مزیت است زیرا همبستگی بالایی با پایین بودن کیفیت پخت دارند (Payne 1987; Fnag et al. 2009). بالا بودن فراوانی آلل ۲+۱۲ در مکان *Glu-D1* در این بررسی قابل تایید با گزارشات بدست آمده از وارته‌های مطالعه شده در آسیای شرقی است (Nakamura et al. 2000; Branlard et al. 2003; Bushehri et al. 2006; Fang et al. 2009; Li et al. 2010; Afshan et al. 2009) و در تضاد با نتایج بدست آمده از بررسی ارقام گندم نان ایتالیایی می‌باشد (Dessalegn et al. 2011). زیر واحد ۵+۱۰ که بیش‌ترین ارتباط را با خوب بودن کیفیت پخت نان داراست (Lookhart et al. 1993; Lafiandra et al. 1998) در بیش‌تر از ۹۵ درصد ارقام کانادایی، ۸۵ درصد از ارقام آمریکایی (Bushuk1997; Rabinovich 1989)، ۷۵ درصد از ارقام اسلواکی (sramkova et al. 2009)، ۵۰ درصد ارقام

جدول ۲- فراوانی آللی ۱۵۴ نمونه گندم نان مورد بررسی

مکان ژنی	شماره آلل	آلل	فراوانی	فراوانی نسبی	تنوع ژنتیکی	میانگین تنوع ژنتیکی (H)
GLU-A1	۱	a	۱۰	۰/۰۶۴	۰/۲۲۴	
	۲	b(۲*)	۸	۰/۰۵۱		
	۳	c(نول)	۱۳۶	۰/۸۸		
GLU-B1	۱	b(۷+۸)	۱۳۱	۰/۸۵	۰/۲۷۴	۰/۲۰۸
	۲	c(۷+۹)	۶	۰/۰۳۸		
	۳	d(۶+۸)	۳	۰/۰۱۹		
	۴	f(۱۳+۱۶)	۳	۰/۰۱۹		
	۵	i(۱۳+۱۹)	۶	۰/۰۳۸		
	۶	h(۱۴+۱۵)	۵	۰/۰۳۲		
GLU-D1	۱	a(۲+۱۲)	۱۴۴	۰/۹۳۵	۰/۱۲۸	
	۲	d(۵+۱۰)	۸	۰/۰۵۱		
	۳	i(۱۰)	۲	۰/۰۱۲		

منابع

- Afshan S, Naqavi FN (2010) Allelic Variation in high molecular Weight Glutenin Subunits in Pakistani Bread Wheat Genotypes. Journal of Cereal Research Communications 39:109-119.
- Bahraei S, Saidi A, Alizadeh D (2004) High molecular weight glutenin subunits of current bread wheats grown in Iran. Euphytica 137: 173-179.
- Branlard G, Dardevet M, Amiour N, Igrejas G (2003) Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega-gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Genetic resources and Crop Evolution 50: 669-679.
- Bushehri AAS, Gomarian M, Yazdi-Samadi B (2006) The high molecular weight glutenin subunit composition in old and modern bread wheats cultivated in Iran. Australian Journal of Agricultural Resources 57:1109-1114.
- Bushuk W (1997) Wheat breeding for end product use. In: Wheat: Prospects for global improvements. Developments in Plant Breeding. 6: 203-211. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Butow BJ, Ma W, Gale KR, Cornish GB, Rampling L, Larroque O, Morell MK, Békés F (2003) Molecular discrimination of Bx7 alleles demonstrates that a highly expressed high-molecular-weight glutenin allele has a major impact on wheat flour dough strength. Theoretical and Applied Genetics 107:1524-1532.
- Dessaegn T, Deventé CS Van, Labuschagne MT, Martens H (2011) Allelic variation of HMW glutenin subunits of Ethiopian bread wheat cultivars and their quality. African Crop Science Journal 19: 55-63.

پخت مکانیزه و پیدا کردن راهکارهایی برای افزایش تولید را ضروری دانست. اصلاح‌گران ایرانی از این پس باید ترکیبات HMW-GS را به منظور بهبود کیفیت پخت در انتخاب والدین مورد توجه قرار دهند. اطلاعات موجود در این تحقیق هم چنین ممکن است مورد توجه اصلاح‌کنندگان سایر کشورها که مایل به داشتن اطلاعاتی در مورد ژرم پلاسما گندم‌های نان ایران هستند، قرار بگیرد. همچنین بانک ژن دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران حاوی مجموعه‌ای غنی از ذخایر توارثی ارزشمند می‌باشد که به جز معدودی اطلاعات مورفولوژیکی هیچ گونه اطلاعات مولکولی جامع و منسجمی در خصوص آنها وجود ندارد به طوری که عملاً استفاده از آنها را در کارهای اصلاحی ارقام زارعی با محدودیت مواجه می‌کند. این پروژه که از طریق انگشت نگاری مولکولی (از جمله پروتئین) به آن پرداخته شده است، بخشی از پروژه جامعی است که هدف آن شناسایی صفات مولکولی این ذخایر بومی می‌باشد و از طریق تدوین آنها در یک کاتالوگ ژنی برنامه‌های اصلاحی ارقام زارعی، می‌تواند مورد استفاده اصلاح‌گران قرار گیرد.

- Dong H, Cox TS, Sears RC, Lookhart GL (1991) High molecular weight glutenin genes: effect on quality in wheat. *Crop Science* 31: 974-979.
- Fang, J, Liu Y, Luo J, Wang Y, Shewry PR, He G (2009) Allelic variation and genetic diversity of high molecular weight glutenin subunit in Chinese endemic wheats (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 166 :177-182.
- Fufa, H, Baenziger PS, Beecher I, Dweikat V, Graybosch RA, Eskridge KM (2005) Comparison of phenotypic and molecular marker-based classifications of hard red winter wheat cultivars. *Euphytica* 145:133-146.
- Gupta RB, MacRitchie F (1994) Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1 of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *Journal of Cereal Science* 19:19-29.
- He ZH, Pena RJ, Rajaram S (1992) High molecular weight glutenin subunit composition of Chinese bread wheat. *Euphytica* 64: 11-20.
- Knežević D, Šurlan-Momirović G, Ćirić D (1993) Allelic variation at Glu-1 loci in some Yugoslav wheat cultivars. *Euphytica* 69 :89-94.
- Kozub NA, Sozinov IA, Sobko TA, Kolyuchii VT, Kuptsov SV, Sozinov AA (2009) Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the central forest-steppe of Ukraine. *Cytology and Genetics* 43 :55-62.
- Laemmli VK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lafiandra D, Masci S, Margiotta B, De Ambrogio E (1998) Development of durum and bread wheat with increased number of high molecular weight glutenin subunits. In: Slinkard, A. E. (ed.), *Proc. 9th International Wheat Genetics Symposium, Grain Quality*. University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada 4: 261-264.
- Lawrence GJ, Shepherd KW (1981) Chromosomal location of genes controlling seed protein in species related to wheat, *Theoretical and Applied Genetics* 59:25-31.
- Li Y, Huang Ch, Sui X, Fan Q, Li G, Chu X (2009) Genetic variation of wheat glutenin subunits between landraces and varieties and their contributions to wheat quality improvement in China. *Euphytica* 169 :159-168.
- Lookhart GL, Hagman K, Kasarda DD (1993) High-molecular-weight glutenin subunits of the most commonly grown wheat cultivars in the U.S. in 1984. *Journal of Plant Breeding* 110:48-62.
- Marchylo BA, Lukow OM, Kruger EJ (1992) Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats. *Journal of Cereal Science* 15:29-31.
- Margiotta B, Colaprico G, D'Ovidio RD, Lafiandra D (1993) Characterization of high Mr subunits of glutenin by combined chromatographic (RP-HPLC) and electrophoretic separations and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyses of their encoding genes. *Journal of Cereal Science* 17:221-236.
- Metakovsky EV (1991) Gliadin allele identification in common wheat. II. Catalogue of gliadin alleles in common wheat. *Journal of Genetics and Breeding* 45:325-344.
- Nakamura H (2000) The association between high-molecular-weight glutenin subunit composition and bread-making quality of Chinese and Japanese hexaploid wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 51: 371-375.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 70: 3321-3323.
- Payne PI, Lawrence GJ (1983) Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high molecularweight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications Journal* 11: 29-35.
- Payne PI (1987) Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Annual Review of Journal of Plant Physiology* 38:141-153.
- Payne PI, Nightingale MA, Krattiger AF, Holt LM (1987) The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 4: 51-65.
- Pogna NE, Mellini F, Beretta A, Dal Belin PA (1989) The high-molecular weight glutenin subunits of common wheat cultivars grown in Italy. *Journal of Genetics and Breeding* 43: 17-24.
- Rabinovich SV (1989) Composition of high molecular weight glutenin subunits connected with good quality in spring wheats and its distribution in different countries of world in: A.E. Slinkard (ed), *Proc. 9th Intl. Wheat Genetics Symp. Proc. 9th Intl.* 4: 254-256.
- Shewry PR, Halford NG, Tatham AS (1989) The high-molecular-weight subunits of wheat, barely and rye: genetics, molecular biology, chemistry and role in wheat gluten structure and functionality. *Oxford Surveys Plant Molecular Cell Biology* 6:163-219.
- Shewry PR, Halford NG (2002) Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal Expert Botanic* 53:947-958.
- Šramkova Z, Gregova E, Šlikova S, Sturdika E (2009) Wheat Varieties Released in Slovakia and their Bread-Making Quality. *Cereal Research Communications Journal* 38: 386-394.
- Tahir M, Turchetta T, Anwar R, Lafiandra D (1996) Assessment of genetic variability in hexaploid wheat landraces of Pakistan based on polymorphism for HMW-glutenin subunits. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43:211-220.
- Terasawa Y, Kawahara T, Sasakuma T, Sasanuma T (2009) Evaluation of the genetic diversity of an Afghan

wheat collection based on morphological variation, HMW glutenin subunit polymorphisms and AFLP. *Breeding Science Journal* 4:361-371.

Wang L, Zhao X, He Z, Xia X (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. Sydney University Press, Australia.

Yan ZH, LIU DC, ZHNG YL (2007) Isolation and characterization of a novel HMW-GS Glu-Dx allele from tibet bread wheat landrace, *Cereal Research Communications Journal* 36: 523-531.