

تعیین رابطه زیرواحد های گلوتنین با وزن مولکولی بالا و کیفیت نانوائی در گندم نان

فواد فاتحی*^۱، محمودملکی^۲، افشین صلواتی^۳، محمد رضا بی همتا^۴، عباسعلی زالی^۵
و عبدالهادی حسین زاده^۶

۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، دانشجویان کارشناسی ارشد، استادان و دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۴/۱۰/۲۵ - تاریخ تصویب: ۸۵/۷/۱۹)

چکیده

بطور کلی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا نقش کلیدی را در شکل و ساختار گلوتن بازی می کنند و ارتباط تنگاتنگی با کیفیت گندم دارند. تنوع در الگوهای بانندی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا، جهت بررسی کیفیت نانوائی ۸۰ رقم و لاین سنتتیک توسط الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید سدیم دودسیل سولفات ۱۰٪، بررسی شد. ۲۶ ترکیب زیرواحدی شامل ۱۵ آلل مختلف در بین این ارقام شناسایی شدند، که بیشترین فراوانی در مکان **Glu-A1** مربوط به زیر واحد *۲(۴۱/۲۵)٪ و در مکان **Glu-B1** مربوط به زیر واحد ۷+۸(۴۵)٪ و در مکان **Glu-D1** مربوط به زیر واحد ۵+۱۰(۴۸/۷۵)٪ بود، همچنین زیر واحد ۱۲+***۲ که برای اولین بار از پاکستان گزارش شد، در ۷ لاین سنتتیک مشاهده شد. آزمون ارتفاع رسوب، جهت بررسی اثر مکان ژنی **Glu1** روی کیفیت نانوائی انجام گرفت، نتایج نشان داد که آلل های *۲، ۵+۱۰ و ۱۷+۱۸ به ترتیب با فراوانی های ۴۱/۲۵، ۴۸/۷۵ و ۱۸/۷۵ درصد بیشترین تاثیر مثبت و آلل نول با فراوانی ۴۳/۷۵ درصد بیشترین تاثیر منفی را روی ارتفاع رسوب داشته و همبستگی معنی داری با ارتفاع رسوب داشتند. نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام نشان داد که زیرواحد های ۵+۱۰، ۱۷+۱۸ و ۷+۸، به ترتیب وارد مدل شده و در مجموع، ۳۱/۴٪ تغییرات در ارتفاع رسوب را توجیه می کنند.

واژه های کلیدی: زیر واحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا، گندم نان، آزمون ارتفاع

رسوب، کیفیت نانوائی

مقدمه

گلوتنین و گلیادین هستند. گلیادین ها، پروتئین های مونومری کوچکی هستند که شامل زیر گروه های آلفا، بتا، گاما و امگا می باشند. این پروتئین ها ۵۰٪ پرولامینها را تشکیل می دهند(۲۱). گلوتنین ها از زیر واحدهای با وزن مولکولی بالا و پایین تشکیل یافته اند. اگر چه زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا تنها ۱۰٪ پروتئینهای ذخیره ای کل را در مقایسه با زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین(۴۰٪) تشکیل می دهند(۲۱)، با این حال،

در حال حاضر ژنتیک و بیوشیمی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا در گندم نان توسط مطالعات متعددی شناخته شده است(۲۴، ۳۳). علاوه بر این، مطالعات مختلفی همبستگی بین زیر واحدهای معینی از گلوتنین با وزن مولکولی بالا و کیفیت پخت نان را مشخص کرده اند (۳۲). پروتئینهای ذخیره ای اصلی آندوسپرم، با عنوان پرولامین ها شناخته می شوند که شامل دو دسته پروتئینی

این زیر واحدها تاثیر بیشتری روی کیفیت نانوائی می‌گذارند.

زیرواحدهای پروتئینی با وزن مولکولی بالا، توسط مکان ژنی *Glu1* واقع بر روی بازوی بلند کروموزومهای گروه ۱، کد می‌شوند که هر مکان شامل دو ژن کد کننده برای تیپ زیر واحدی نوع *X* و تیپ زیر واحدی نوع *Y* می‌باشد (۳۳)، بدلیل اینکه این دو زیر واحد (*X* و *Y*) ممکن است که در مکان ژنی *Glu1* تظاهر نیابند (برای مثال، در مکان *Glu-A1* ممکن است تیپ *Y* و یا هر دو تیپ *X* و *Y* بیان نشوند)، لذا در واریته‌های گندم ۳ تا ۵ زیر واحد مشاهده می‌گردد.

بر اساس مطالعات پایین و همکاران (۱۹۷۹ و ۱۹۸۱)، اکثر محققین روی همبستگی بین حضور یا عدم حضور آللهای زیر واحدی و کیفیت گندم بویژه کیفیت نانوائی تمرکز کرده‌اند. در حال حاضر ترکیبهای زیر واحدی گلوئین با وزن مولکولی بالا در واریته‌های گندم نان بسیاری از کشورها انتشار یافته‌است، و تجزیه این داده‌ها در افزایش دانش ما نسبت به توزیع جهانی آللهای *Glu-1* سهم به‌سزایی داشته‌است.

اخیراً نشان داده شده‌است که حجم نان بستگی به ترکیب پروتئینها دارد، گلوئین و گلیادین با هم ۸۰٪ پروتئین کل آرد گندم را تشکیل می‌دهند (۱، ۸، ۲۸ و ۳۴). تاثیر گلیادین و گلوئین بر روی خصوصیات خمیر از مدت‌ها پیش شناخته شده‌است و پیشنهاد شده‌است که گلیادین‌ها در ویسکوزیته خمیر و گلوئین در خاصیت الاستیسیته خمیر نقش دارند (۱۰). پایین و همکاران (۱۹۸۴) نیز بیان داشتند که زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی بالا برای الاستیسیته گلوئن و کیفیت پخت نان و کیفیت پخت ماکارونی آرد گندم ضروری هستند. همچنین ثابت شده‌است که عوامل اصلی تاثیر گذار روی کیفیت نان شامل زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی بالا (۲۳)، نسبت گلوئین به گلیادین (۲، ۶، ۱۲، ۲۶)، توزیع وزن مولکولی (۶، ۱۲) و محتوای پروتئینی کل می‌باشد.

ژنهای کد کننده زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی بالا تنوع آلی بزرگی را نشان می‌دهند (۲۰). روابط بین تنوع مولکولی پلی‌پپتیدهای با وزن مولکولی بالا توسط

آللهای مختلفی کنترل می‌شوند و پارامترهای کیفیت توسط مطالعات زیادی مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته‌اند (۱۱، ۱۴، ۲۴، ۲۵). برای مثال، پایین و همکاران (۱۹۸۷) دریافتند که وجود زیر واحدهای ۱ یا ۲* (در مقابل زیر واحد نول) در مکان *Glu-A1* باعث حجم رسوب *SDS* بالاتری می‌شود. در مقابل، گریبوش و همکاران (۱۹۹۴) و روگرز و همکاران (۱۹۹۹) هیچ رابطه‌ای بین زیر واحدهای ۱ و ۲* و ارزش کیفی پیدا نکردند. این نتایج اهمیت زمینه ژنتیکی و بسیاری از واکنشهای ممکن بین زیر واحدهای مختلف و سایر اجزای گلوئن به همراه اثرات محیطی را نشان می‌دهند. پایین و همکاران (۱۹۸۱) و گوپتا و همکاران (۱۹۹۳)، در مطالعاتی که جهت مقایسه اثر زیر واحدهای ۱۲+۲ و ۱۰+۵ (که توسط مکان *Glu-D1* کد می‌شوند) انجام دادند، اثر مثبت زیر واحد ۱۰+۵ را گزارش کردند. همچنین پرون و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که وجود زیر واحد ۸+۷ در مقایسه با زیر واحد ۹+۷ که توسط مکان ژنی *Glu-B1* کد می‌شوند، با قدرت خمیر بالاتری ارتباط دارد.

صادق زاده و همکاران (۱۳۸۱)، با بررسی تعیین رابطه زیر واحد های گلوئین با وزن مولکولی زیاد با کیفیت نانوائی از طریق الکتروفورز مشاهده کردند که همبستگی مثبت و معنی داری بین آللهای ۲* و ۱۰+۵ و همبستگی منفی و معنی داری بین آلل های نول و ۱۲+۲ با ارتفاع رسوب وجود دارد. همچنین با انجام تجزیه رگرسیون گام به گام معلوم شد که به ترتیب زیر واحدهای ۱۰+۵، ۸+۷ و ۱۸+۱۷ وارد مدل شده و در مجموع ۳۹ درصد تغییرات در ارتفاع رسوب را توجیه می‌کنند.

نجفیان و همکاران (۱۳۷۶) با مطالعه تاثیر تنوع آلی زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی زیاد در ارزش نانوائی لاین های به نژادی گندم نان مشاهده کردند که آلل ۱۸+۱۷ همبستگی مثبت و معنی داری و آلل ۹+۷ همبستگی منفی و معنی داری با آزمون ارتفاع رسوب دارد. نجفیان و عبد میثانی (۱۳۷۴) با مطالعه رابطه بین گلوئین های دارای وزن مولکولی زیاد با کیفیت نانوائی گندم های کشت شده در ایران مشاهده کردند که در مکان ژنی *Glu-A1* زیر واحد های ۱ و ۲* و در مکان ژنی *Glu-*

گلوٲتین با وزن مولکولی بالا، بر طبق روش پاین و لارنس (۱۹۸۳) و با استفاده از ارقام شاهد چاینیزاسپرینگ (حاوی بندهای ۷+۸ و ۲+۱۲)، هیرمند (*۲، ۱۷+۱۸ و ۲+۱۲) و فلات (۱، ۷+۹ و ۵+۱۰) انجام گردید.

نمره کیفی کل بر طبق روش پاین و همکاران (۱۹۸۷) از طریق جمع نمره های تک تک باندها محاسبه گردید. برای جداسازی زیر واحدهای *۲ و ۲ در ارقام و لاینهای حاوی زیرواحد ۲+۱۲ از روش SDS-PAGE ۷/۵٪ استفاده گردید.

آزمون ارتفاع رسوب SDS با توجه به روش کوئیک و دانلی (۱۹۸۰) انجام گردید. ابتدا از هر لاین یا رقم مورد نظر مقدار ۶ گرم آرد توسط آسیاب UDY تهیه گردید، سپس به همراه ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به درون یک استوانه مدرج ۱۰۰ میلی لیتری اضافه شد و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد، سپس ۵۰ میلی لیتر از محلول SDS ۲٪ که به آن به ازای هر ۵۰ میلی لیتر ۱ میلی لیتر از محلول اسید لاکتیک^۵ ۸۵٪ و آب مقطر (به نسبت ۱ به ۸) اضافه شده بود، به استوانه اضافه گردید و چهار مرتبه با سر و ته کردن استوانه محتوای آن کاملاً مخلوط گردید، که این کار در مدت ۶ دقیقه ۳ بار به فاصله هر ۲ دقیقه ۱ بار تکرار گردید که پس از آخرین سر و ته کردن، استوانه در یک سطح صاف قرار داده شد و بعد از ۱۰ دقیقه ارتفاع رسوب تشکیل شده، یادداشت گردید.

تجزیه واریانس آلل های مکان ژنی Glu-1، با استفاده از طرح فاکتوریل (فاکتور ها Glu-A، Glu-B1 و Glu-D1 و سطوح آن ها آلل های موجود در هر مکان ژنی می باشد) در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل انجام گردید. همچنین برای انجام آزمون مقایسات میانگین آلل های مختلف مکان ژنی Glu-1 از آزمون دانکن استفاده گردید.

برای بررسی همبستگی ساده بین آلل های مکان ژنی Glu-1 و صفت ارتفاع رسوب از ضریب همبستگی پیرسون^۶ و برای بررسی همبستگی بین آلل های مکان ژنی Glu-1، از ضریب همبستگی اسپیرمن^۷ استفاده گردید. برای

D1 زیر واحد ۵+۱۰ دارای ارزش بیشتری از لحاظ کیفیت نانوائی نسبت به سایر زیر واحدهای موجود در این مکان های ژنی بودند.

هدف از این مطالعه شناسایی ترکیبهای آللی در هر سه مکان ژنی کنترل کننده زیرواحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی بالا و همچنین مطالعه تاثیر این ترکیبات آللی روی کیفیت نانوائی از طریق آزمون ارتفاع رسوب SDS می باشد. نتایج با هدف شناسایی ترکیبهای زیر واحدی گلوٲتین با وزن مولکولی بالا در لاینهای سنتتیک ناشناخته و یک سری ارقام اصلاح شده بومی ارائه می شوند.

مواد و روش ها

۴۰ لاین سنتتیک ارسالی از مکزیک و ۴۰ رقم اصلاح شده بومی ایران برای این تحقیق در نظر گرفته شدند (جدول ۱). پروتئین ذخیره ای اندوسپرم این لاینها و ارقام بوسيله الكتروفورز ژل اکریل آمید سدیم دودسیل سولفات ۱۰٪ و با توجه به روش پاین و همکاران (۱۹۸۱) در آزمایشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران بررسی شدند.

آرد حاصل از نصف بذر بدون جنین را در ۵۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج (حاوی بافر تریس^۱ - HCL ۰/۱۲۵ مولار (PH=8.6)، سدیم دودسیل سولفات^۲ ۲ درصد، گلیسرول^۳ ۱۰ درصد و ۲-مرکاپتو اتانول^۴ ۵ درصد) مخلوط شد. تیوبهای حاوی نمونه ها، ۸ بار به فاصله هر ۱۵ دقیقه یک بار و هر بار به مدت ۲ دقیقه، ورتکس گردید، سپس حداقل به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند، و پس از آن، ۱۰ دقیقه با ۶۵۰۰ دور در دقیقه، سانتریفوژ شدند، سپس از قسمت مایع بالایی مقدار ۱۵ میکرولیتر برداشته و به داخل چاهکها لود گردید. عمل الکتروفورز بوسيله دستگاه الکتروفورز عمودی ژل آکریل آمید و با شدت جریان ثابت ۲۵ میلی آمپر به مدت ۷/۵ ساعت انجام گردید. شناسایی و نامگذاری زیر واحدهای

1. Tris
2. Sodium dodcyl sulfate
3. Glycerol
4. Mercaptoethanol

5. Lactic acid
6. Pearson
7. Spearman

ژنی **Glu-A1** گزارش شده است (۱۵). فراوانی آلل *۲ نیز تقریباً، مشابه آلل نول بود (جدول ۲). در مکان **Glu-B1**، زیر واحدهای ۶+۸، ۷، ۷+۸، ۷+۹، ۱۳+۱۶، ۱۳+۱۹، ۱۳+۱۵ و ۱۷+۱۸ یافت شدند. زیر واحد ۷+۸ در ۴۵٪ از لاینها و ارقام مورد مطالعه، مشاهده شد، در صورتیکه در بین ۱۳۸۰ واریته جمع آوری شده از سراسر جهان، ۲۵٪ از این آلل در مکان ژنی **Glu-B1** گزارش شده است (۱۵).

فراوانی زیر واحدهای ۵+۱۰ و ۲+۱۲ که توسط مکان **Glu-D1** کد می شوند، به ترتیب در ۴۸/۷۵٪ و ۴۱/۲۵٪ لاینها و ارقام مورد مطالعه مشاهده گردید، در صورتیکه در بین ۱۳۸۰ واریته جمع آوری شده از سراسر جهان، به ترتیب ۴۱٪ و ۳۵٪ درصد از این آلل ها در مکان ژنی **Glu-D1** گزارش شده است (۱۵).

زیر واحد ۱۲+۲* که توسط مکان **Glu-D1** کد می شود، به عنوان یک آلل جدید با فراوانی خیلی پایین در بین نژادهای بومی گندم نان پاکستان گزارش شده است (۳۵). این زیر واحد در ۷ لاین (۸/۷۵٪) مشاهده شد.

بحرایی و همکاران (۱۹۹۹) نیز، فراوانی بالای این زیر واحد را در ارقام بومی ایرانی موجود در ناحیه سیستان و بلوچستان ایران گزارش کردند.

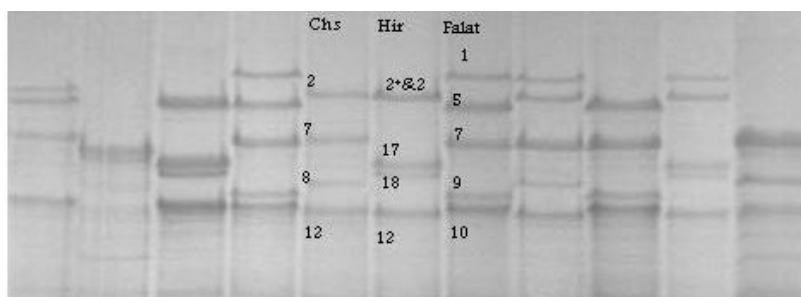
جدول ۲ نشان می دهد که فراوانی اکثر گروه های زیر واحدی نسبتاً بالا می باشد و اللهای نول، *۲، ۷+۸، ۵+۱۰، ۲+۱۲ حداقل در ۴۱/۲۵٪ لاینها و ارقام مورد مطالعه یافت شدند.

محاسبه تجزیه رگرسیون گام به گام، صفت ارتفاع رسوب به عنوان متغیر وابسته و الل های مکان ژنی **Glu-1** به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند. به منظور انجام تجزیه واریانس و رگرسیون گام به گام به ترتیب از نرم افزارهای SAS و SPSS استفاده گردید.

نتایج و بحث

زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی بالا حرکت الکتروفورزی آهسته تری نسبت به گلیادین یا زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی پایین دارند، بنابراین می توانند به وضوح شناسایی شوند. با توجه به اهمیت گلوئین ها الگوی بانندی این زیر واحد ها در ژل اکریل آمید ۱۰٪ تعیین شد. جدول ۲، آللهای مکانهای ژنی **Glu-A1**، **Glu-B1** و **Glu-D1** را نشان می دهد. برای لاینهای سنتتیک و ارقام گندم اصلاح شده ایرانی ۱۵ آلل مختلف شناسایی شدند که سه آلل مربوط به مکان **Glu-A1** و ۸ آلل مربوط به مکان ژنی **Glu-B1** و ۴ آلل مربوط به مکان **Glu-D1** می باشد (جدول ۲ و شکل ۱). هر الگو شامل سه الی پنج باند از زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی بالا، می باشد. گزارش شده است که ترکیب زیر واحدهای گلوئین با وزن مولکولی بالا سیستم مفیدی برای شناسایی واریته های گندم می باشد (۲۲). لاینهای سنتتیک و ارقام مورد مطالعه بر اساس این پارامتر، به ۲۶ گروه تقسیم شدند.

آلل نول مکان، **Glu-A1** در ۴۳/۷۵٪ از لاینها و ارقام مورد مطالعه مشاهده شد، در صورتیکه در بین ۱۳۸۰ واریته جمع آوری شده از سراسر جهان، ۳۶٪ از این آلل در مکان



شکل ۱- جداسازی زیرواحدهای گلوئین با وزن مولکولی بالا با روش SDS-PAGE در

بعضی گندمهای مورد بررسی

جدول ۱- لاین های مصنوعی و ارقام مورد مطالعه

نمره	Glu-D1	Glu-B1	Glu-A1	اسامی ژنوتیپ ها	نمره	Glu-D1	Glu-B1	Glu-A1	اسامی ژنوتیپ ها
nd	۳ ^{xxx} +۱۲	۷+۸	Null	بولانی	۱۰	۵+۱۰	۱۷+۱۸	۲*	لاین مصنوعی ۱
۱۰	۵+۱۰	۷+۸	۲*	چمران	۱۰	۵+۱۰	۱۷+۱۸	۲*	لاین مصنوعی ۲
۶	۵+۱۰	۶+۸	Null	گاسپارد	۸	۵+۱۰	۱۷+۱۸	Null	لاین مصنوعی ۳
۶	۲+۱۲	۷+۸	Null	فروناتا	۹	۵+۱۰	۷+۹	۲*	لاین مصنوعی ۴
۹	۵+۱۰	۷+۹	۱	فلات	nd	۳ ^{xxx} +۱۲	۷+۸	Null	لاین مصنوعی ۵
۸	۲+۱۲	۷+۸	۲*	سرداری	nd	۳ ^{xxx} +۱۲	۷+۸	۲*	لاین مصنوعی ۶
۸	۲+۱۲	۷+۸	۲*	آزادی	۵	۲+۱۲	۷+۹	Null	لاین مصنوعی ۷
۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	قفقاز	۸	۲+۱۲	۷+۸	۲*	لاین مصنوعی ۸
۵	۲+۱۲	۷+۹	Null	الموت	۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	لاین مصنوعی ۹
۸	۲+۱۲	۷+۸	۲*	مهدوی	۱۰	۵+۱۰	۷+۸	۲*	لاین مصنوعی ۱۰
۸	۲+۱۲	۷+۸	۱	الوند	۶	۲+۱۲	۷+۸	Null	لاین مصنوعی ۱۱
۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	رسول	nd	۳ ^{xxx} +۱۲	۷+۸	Null	لاین مصنوعی ۱۲
۸	۲+۱۲	۷+۸	۲*	قدس	۸	۵+۱۰	۷+۸	Null	لاین مصنوعی ۱۳
۱۰	۵+۱۰	۱۷+۱۸	۲*	زاگرس	۱۰	۵+۱۰	۷+۸	۲*	لاین مصنوعی ۱۴
۶	۲+۱۲	۷+۸	Null	بیستون	۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	لاین مصنوعی ۱۵
۱۰	۵+۱۰	۱۷+۱۸	۲*	کاوه	۱۰	۵+۱۰	۱۳+۱۶	۲*	لاین مصنوعی ۱۶
۸	۲+۱۲	۱۷+۱۸	۲*	البرز	nd	۳ ^{xxx} +۱۲	۷+۸	Null	لاین مصنوعی ۱۷
۱۰	۵+۱۰	۱۳+۱۶	۱	ناز	۱۰	۵+۱۰	۷+۸	۲*	لاین مصنوعی ۱۸
۸	۲+۱۲	۱۷+۱۸	۲*	بیات	nd	۳ ^{xxx} +۱۲	۷+۸	Null	لاین مصنوعی ۱۹
۸	۲+۱۲	۷+۸	۲*	مغان	۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	لاین مصنوعی ۲۰
۸	۵+۱۰	۷+۸	Null	کرج ۲	۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	لاین مصنوعی ۲۱
۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	کرج ۱	۸	۲+۱۲	۷+۸	۱	لاین مصنوعی ۲۲
۸	۲+۱۲	۱۳+۱۶	۲*	خزر ۱	۱۰	۵+۱۰	۱۳+۱۶	۲*	لاین مصنوعی ۲۳
۹	۵+۱۰	۷+۹	۲*	بزوستایا	۱۰	۵+۱۰	۱۳+۱۶	۲*	لاین مصنوعی ۲۴
۶	۲+۱۲	۷+۸	Null	روشن	۱۰	۵+۱۰	۷+۸	۲*	لاین مصنوعی ۲۵
۸	۲+۱۲	۱۷+۱۸	۲*	شعله	۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	لاین مصنوعی ۲۶
۶	۲+۱۲	۷+۸	Null	امید	۶	۲+۱۲	۶+۸	۱	لاین مصنوعی ۲۷
۸	۲+۱۲	۱۷+۱۸	۲*	هیرمند	۸	۲+۱۲	۱۷+۱۸	۱	لاین مصنوعی ۲۸
۹	۵+۱۰	۷+۹	۲*	اترک	nd	۳ ^{xxx} +۱۲	۷+۸	Null	لاین مصنوعی ۲۹
۸	۵+۱۰	۷	۲*	نوید	۸	۲+۱۲	۱۳+۱۶	۲*	لاین مصنوعی ۳۰
۱۰	۵+۱۰	۷+۸	۱	اینیا	۷	۵+۱۰	۷+۹	Null	لاین مصنوعی ۳۱
۸	۵+۱۰	۷+۸	Null	خلیج	۱۰	۵+۱۰	۱۳+۱۶	۲*	لاین مصنوعی ۳۲
۸	۵+۱۰	۱۷+۱۸	Null	گلستان	۸	۲+۱۲	۷+۸	۱	لاین مصنوعی ۳۳
۸	۲+۱۲	۱۷+۱۸	۲*	داراب	۸	۵+۱۰	۷	۲*	لاین مصنوعی ۳۴
۸	۵+۱۰	۷+۸	Null	رشید	۹	۵+۱۰	۷+۹	۱	لاین مصنوعی ۳۵
۸	۲+۱۲	۱۷+۱۸	۱	زرین	۸	۲+۱۲	۷+۸	۱	لاین مصنوعی ۳۶
۶	۲+۱۲	۷+۸	Null	شاهپسند	۸	۲+۱۲	۱۷+۱۸	۱	لاین مصنوعی ۳۷
۶	۲+۱۲	۷+۸	Null	طیسی	nd	۱۲	۷+۸	Null	لاین مصنوعی ۳۸
nd	۲+۱۲	۱۳+۱۹	Null	عدل جدید	۶	۲+۱۲	۱۷+۱۸	Null	لاین مصنوعی ۳۹
۷	۵+۱۰	۱۴+۱۵	Null	سیلان	۸	۲+۱۲	۷+۸	۲*	لاین مصنوعی ۴۰

جدول ۲- انواع زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا به همراه فراوانی آنها

مکان یابی ژنی	Glu-A1			Glu-B1						Glu-D1					
	۱	۲*	۱۷+۱۸	۱۴+۱۵	۱۳+۱۹	۱۳+۱۶	۷+۹	۷+۸	۷	۶+۸	۵+۱۰	۳***+۱۲	۲+۱۲	۱۲	
نوع باند	Null	۱	۲*	۱۷+۱۸	۱۴+۱۵	۱۳+۱۹	۱۳+۱۶	۷+۹	۷+۸	۷	۶+۸	۵+۱۰	۳***+۱۲	۲+۱۲	۱۲
فراوانی	۳۵	۱۲	۳۳	۱۵	۱	۱	۷	۱۶	۳۶	۲	۲	۳۹	۷	۳۳	۱
فراوانی نسبی(%)	۴۳/۷۵	۱۵	۴۱/۲۵	۱۸/۷۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۸/۷۵	۲۰	۴۵	۲/۵	۲/۵	۴۸/۷۵	۸/۷۵	۴۱/۲۵	۱/۲۵

(جدول ۳) که این تنوع فوق العاده بالایی بین این ارقام و لاینها را نشان می دهد. این تنوع آلی گسترده در مکان **Glu-1**، یافته با ارزشی در تحقیقات مربوط به پروتئین های ذخیره ای بذر گندم می باشد.

در مطالعات مختلف تاثیر مثبت زیر واحدهای ۷+۸ و ۵+۱۰ روی کیفیت نانوايي مشخص شده است (۷، ۲۰، ۲۷). فراوانی این دو زیر واحد در لاینها و ارقام مورد مطالعه نسبت به سایر آلهها بیشتر بود که این نشان دهنده کیفیت بالای ارقام و لاینهای مورد مطالعه می باشد.

رایج ترین ترکیب زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا، ترکیبهای ۵+۱۰، ۷+۹، Null، ۲+۱۲، ۷+۸، ۲* و ۱۳+۱۶، ۷+۸، ۲+۱۲ می باشند که به ترتیب در ۱۰، ۷ و ۷ لاین و رقم مورد مطالعه مشاهده شدند، همچنین ترکیبهای ۵+۱۰، ۷+۸، ۲*، ۱۷+۱۸، ۵+۱۰، ۲*، ۵+۱۰، ۱۳+۱۶، ۱۳+۱۶، ۲* و ۱۳+۱۶، ۵+۱۰، ۱ که نمره کیفی ۱۰ را دریافت کرده اند به ترتیب در ۵، ۳، ۴ و ۱ رقم مشاهده شدند.

نتایج تجزیه واریانس مکان ژنی **Glu-1** برای ارتفاع رسوب (جدول ۴) نشان داد که مکان های ژنی **Glu-B1** و **Glu-D1** اثر معنی داری روی ارتفاع رسوب داشتند. در حالیکه مکان ژنی **Glu-A1** اثر معنی داری روی ارتفاع رسوب نداشتند.

مقایسه میانگین آلل های مکان های ژنی **Glu-A1**، **Glu-B1** و **Glu-D1** (جدول ۵) نشان داد که در مکان ژنی **Glu-A1** آلل ۲* دارای بالاترین میانگین بود و تفاوت معنی داری با آلل های ۱ و Null داشت. در حالیکه تفاوت معنی داری بین آلل های ۱ و Null مشاهده نشد. در مکان ژنی **Glu-B1** آلل ۱۷+۱۸، ۱۳+۱۶ و ۷+۸ دارای بالاترین میانگین بودند. در مکان ژنی **Glu-D1** آلل ۵+۱۰ و ۲+۱۲ دارای بالاترین میانگین بودند.

جدول ۳- ترکیب های مختلف و نمره کیفی زیرواحد های گلوتنین با وزن مولکولی بالا در لاین ها و ارقام مورد مطالعه

نمره کیفی Glu-1	تعداد واریته ها	درصد فراوانی	ترکیب زیرواحدی
۱۰	۴	۵	۲*، ۱۷+۱۸، ۵+۱۰
۸	۲	۲/۵	Null، ۱۷+۱۸، ۵+۱۰
۹	۳	۳/۷۵	۲*، ۷+۹، ۵+۱۰
nd	۶	۷/۵	Null، ۷+۸، ۳***+۱۲
nd	۱	۱/۲۵	۲*، ۷+۸، ۳***+۱۲
۵	۲	۲/۵	Null، ۷+۹، ۲+۱۲
۸	۷	۸/۷۵	۲*، ۷+۸، ۲+۱۲
۷	۹	۱۲/۵	Null، ۷+۹، ۵+۱۰
۱۰	۵	۶/۲۵	۲*، ۷+۸، ۵+۱۰
۶	۷	۸/۷۵	Null، ۷+۸، ۲+۱۲
۸	۴	۵	Null، ۷+۸، ۵+۱۰
۱۰	۴	۵	۲*، ۱۳+۱۶، ۵+۱۰
۸	۴	۵	۱، ۷+۸، ۲+۱۲
۶	۱	۱/۲۵	۱، ۶+۸، ۲+۱۲
۸	۳	۳/۷۵	۱، ۱۷+۱۸، ۲+۱۲
۸	۲	۲/۵	۲*، ۱۳+۱۶، ۲+۱۲
۶	۱	۱/۲۵	Null، ۶+۸، ۵+۱۰
۹	۲	۲/۵	۱، ۷+۹، ۵+۱۰
۸	۲	۲/۵	۲*، ۷، ۵+۱۰
nd	۱	۱/۲۵	Null، ۷+۸، ۱۲
۶	۱	۱/۲۵	Null، ۱۷+۱۸، ۲+۱۲
۷	۱	۱/۲۵	Null، ۱۴+۱۵، ۵+۱۰
۸	۵	۶/۲۵	۲*، ۱۷+۱۸، ۲+۱۲
۱۰	۱	۱/۲۵	۱، ۱۳+۱۶، ۵+۱۰
۱۰	۱	۱/۲۵	۱، ۷+۸، ۵+۱۰
nd	۱	۱/۲۵	Null، ۱۳+۱۹، ۲+۱۲

nd نشان می دهد که نمره کیفی رقم یا لاین مورد نظر مشخص نیست

نمرات کیفی مکان **Glu-1** نسبتاً بالا می باشد و نمره های کیفی این مکان ژنی در لاینها و ارقام مورد مطالعه بین ۵ تا ۱۰ قرار دارند (جدول ۳).

در این تحقیق مشخص شد که درون ارقام و لاینهای سنتتیک مورد مطالعه، ۲۶ ترکیب زیر واحدی گلوتنین با وزن مولکولی بالا در بین ۸۰ رقم و لاین وجود دارد

نتایج همبستگی ساده زیر واحدهای گلوٲتین با وزن مولکولی بالا با ارتفاع رسوب (جدول ۶) نشان داد که آلل های *۲، ۵+۱۰ و ۱۷+۱۸ همبستگی مثبت و معنی داری با صفت ارتفاع رسوب نشان دادند، همچنین آلل های نول ، ۷+۹ و ۲+۱۲ همبستگی منفی و معنی داری را با صفت ارتفاع رسوب نشان دادند، که این نتیجه با نتایج صادق زاده و همکاران (۱۳۸۰) و نجفیان و همکاران (۱۳۷۵) مطابقت دارد.

با توجه به نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام (جدول ۷) مشاهده شد که در اولین گام زیر واحد ۵+۱۰ وارد مدل شد که به تنهایی ۱۵/۴٪ از تغییرات ارتفاع رسوب را توجیه می کند و در گام دوم زیرواحد ۱۷+۱۸ وارد مدل گردید که ۵/۸٪ تغییرات در ارتفاع رسوب را توجیه می کند. در گام سوم زیر واحد ۷+۸ وارد مدل شد که ۵٪ تغییرات در ارتفاع رسوب را توجیه می کند و در گام آخر زیر واحد نول از مکان Glu-A1 وارد مدل گردید.

بطور کلی باندهای *۲ از مکان Glu-A1 ، ۵+۱۰ از مکان Glu-D1 و ۱۷+۱۸ از مکان Glu-B1 روی ارتفاع رسوب بیشترین تاثیر را داشته و بر اساس تجزیه رگرسیونی انجام گرفته، تنها ۳۱/۲٪ تغییرات توسط مدل ارائه شده توجیه می گردد و این نتیجه با بخشی از نتایج صادق زاده و همکاران (۱۳۸۰) مطابقت دارد، که این نشان می دهد کیفیت نانویی علاوه بر زیرواحد های گلوٲتین با وزن مولکولی بالا، تحت تاثیر زیرواحد های گلوٲتین با وزن مولکولی پایین، نسبت گلوٲتین به گلیادین (۲، ۶، ۱۲، ۲۶)، توزیع وزن مولکولی (۶، ۱۲) و محتوای پروٲئینی کل می باشد (۱۳). این نتایج اهمیت زمینه ژنتیکی و بسیاری از واکنشهای ممکن بین زیر واحدهای مختلف و سایر اجزای گلوٲن به همراه اثرات محیطی را نشان می دهند.

در پایان لازم به ذکر است که در حال حاضر با توجه به اثر مثبت آلل ۵X از زیرواحد ۵+۱۰ روی کیفیت نانویی، برخی از محققین ژن کد کننده این آلل را جداسازی کرده و به گندم هگزاپلوئید مورد نظر منتقل کرده اند تا تاثیر این آلل را روی کیفیت نانویی گیاه تراریخت بررسی کنند (۵) و این می تواند به عنوان یک زمینه مطالعاتی مفید، مورد توجه محققین قرار گیرد.

جدول ۴- تجزیه واریانس مکان ژنی Glu-1 برای ارتفاع

رسوب			منابع تغییر
F	میانگین مربعات	درجه آزادی	
۱/۷۴	۳۴/۱۹۷	۲	Glu-A1
۴/۶۸	۹۲/۱۵۴	۷	Glu-B1
۹/۳۳	۱۸۳/۹۰	۳	Glu-D1
۰/۷۸	۱۵/۴	۶	Glu-A1* Glu-B1
۰/۱۸	۳/۴۵۶	۳	Glu-A1* Glu-D1
۰/۲۵	۴/۹۸۸	۳	Glu-B1* Glu-D1
۰/۰۰	۰/۰۰۷	۱	Glu-A1* Glu-B1* Glu-D1
	۱۹/۷۰۹	۵۴	خطای آزمایشی

** نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۵- مقایسه میانگین اللهای مکان ژنی Glu-1 با

استفاده از آزمون دانکن

گروه	میانگین ال ها	الل های مکانهای ژنی	مکانهای ژنی
A	۴۳/۹۷۱	۲*	
B	۴۰/۶۶۷	۱	Glu-A1
B	۳۸/۲۳۵	Null	
A	۴۵/۷۳۳	۱۷+۱۸	
AB	۴۲/۸۵۷	۱۳+۱۶	
AB	۴۱/۱۳۹	۷+۸	
AB	۳۹/۵	۷	
AB	۳۹	۱۴+۱۵	Glu-B1
B	۳۷/۵	۷+۹	
B	۳۷	۶+۸	
C	۲۴	۱۳+۱۹	
A	۴۴/۰۲۵	۵+۱۰	
AB	۳۸/۲۷۳	۲+۱۲	Glu-D1
AB	۳۷/۱۶۷	۳***+۱۲	
B	۳۶	۱۲	

نتایج نشان داد که آلل های *۲، ۵+۱۰ و ۱۷+۱۸ به ترتیب با فراوانی های ۴۱/۲۵ ، ۴۸/۷۵ و ۱۸/۷۵ درصد بیشترین تاثیر مثبت و آلل نول با فراوانی ۴۳/۷۵ درصد بیشترین تاثیر منفی را روی ارتفاع رسوب داشته و همبستگی معنی داری با ارتفاع رسوب داشتند.

جدول ۶- ضرایب همبستگی ساده زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا با ارتفاع رسوب

ارتفاع رسوب	۱۲	۱۵+۱۰	۲+۱۲	۱۳+۱۹	۱۷+۱۸	۱۵+۱۴	۱۳+۱۳	۷+۹	۷+۸	۷	۶+۸	۲	۱
نول	-۰/۳۸۷ ^{xx}	-۰/۱۳۱	-۰/۲۱	-۰/۲۳۵ ^x	-۰/۱۷۶	-۰/۱۳۱	-۰/۲۱۹	-۰/۱۳۱	-۰/۲۶۶ ^x	-۰/۰۸۶	-۰/۱۳۸	-۰/۰۲۴	-۰/۲۶۱ ^{xx}
۱	-۰/۰۱۵	-۰/۰۴۷	-۰/۱۳۰	-۰/۱۲۰	-۰/۰۶۷	-۰/۰۴۷	-۰/۰۶۷	-۰/۰۲۳	-۰/۰۳۵	-۰/۰۶۷	-۰/۱۵۷	-۰/۳۶۱ ^{xx}	
۲ ^x	-۰/۲۹۸ ^{xx}	-۰/۰۹۷	-۰/۰۷۲	-۰/۱۴۹	-۰/۰۲۸	-۰/۰۹۷	-۰/۱۷۰	-۰/۰۹۷	-۰/۲۴۰ ^x	-۰/۰۶۶	-۰/۱۸۶	-۰/۱۲۸	
۶+۸	-۰/۰۸۲	-۰/۰۱۸	-۰/۰۰۴	-۰/۰۴۶	-۰/۰۲۴	-۰/۰۱۸	-۰/۰۷۷	-۰/۰۱۸	-۰/۰۵۳	-۰/۰۸۰	-۰/۱۴۵	-۰/۰۲۶	
۷	-۰/۰۰۷	-۰/۰۱۸	-۰/۱۶۴	-۰/۰۴۶	-۰/۱۳۸	-۰/۰۱۸	-۰/۰۷۷	-۰/۰۱۸	-۰/۰۵۳	-۰/۰۸۰	-۰/۱۴۵	-۰/۰۱۴۵	
۷+۸	-۰/۰۵۱	-۰/۱۲۴	-۰/۳۸۰ ^{xx}	-۰/۳۱۵ ^{xx}	-۰/۱۸۸	-۰/۱۰۲	-۰/۴۳۵ ^{xx}	-۰/۱۰۲	-۰/۳۰۲ ^{xx}	-۰/۴۵۱ ^{xx}	-۰/۳۰۲ ^{xx}	-۰/۴۵۱ ^{xx}	
۷+۹	-۰/۳۲۲ ^{xx}	-۰/۰۵۶	-۰/۳۸۸ ^{xx}	-۰/۱۴۲	-۰/۳۰۲ ^{xx}	-۰/۰۵۶	-۰/۲۴۰ ^x	-۰/۰۵۶	-۰/۱۶۷	-۰/۰۵۶	-۰/۱۶۷	-۰/۱۶۷	
۱۳+۱۶	-۰/۰۲۱	-۰/۰۳۸	-۰/۰۹۲	-۰/۰۹۵	-۰/۰۳۴	-۰/۰۹۵	-۰/۳۳۸ ^{xx}	-۰/۱۶۰	-۰/۰۲۸	-۰/۱۶۰	-۰/۰۲۸	-۰/۱۶۰	
۱۴+۱۵	-۰/۰۴۹	-۰/۰۱۳	-۰/۱۱۵	-۰/۰۳۲	-۰/۰۹۷	-۰/۰۱۳	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	
۱۷+۱۸	-۰/۲۹۸ ^{xx}	-۰/۰۵۴	-۰/۰۸۴	-۰/۱۳۷	-۰/۱۷۰	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	-۰/۰۵۴	
۱۳+۱۹	-۰/۱۸۸	-۰/۰۱۳	-۰/۱۱۰	-۰/۰۲۲	-۰/۱۲۱	-۰/۰۲۲	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	
۲+۱۲	-۰/۲۶۰ ^x	-۰/۰۹۷	-۰/۸۳۸ ^{xx}	-۰/۲۵۴ ^x	-۰/۲۵۴ ^x	-۰/۲۵۴ ^x	-۰/۲۵۴ ^x	-۰/۲۵۴ ^x	-۰/۲۵۴ ^x	-۰/۲۵۴ ^x	-۰/۲۵۴ ^x	-۰/۲۵۴ ^x	
۲ ^{xx} +۱۲	-۰/۱۷۵	-۰/۰۳۲	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	-۰/۲۷۸ ^x	
۵+۱۰	-۰/۳۷۰ ^{xx}	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	-۰/۱۱۰	
۱۲	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	-۰/۰۹۵	

x و xx به ترتیب نشان می دهد که در سطح ۵٪ و ۱٪ معنی دار می باشد

جدول ۷- نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام برای صفت ارتفاع رسوب

مکان ژنی	آل	β	S.E.	R ² جزئی	R ² مدل	F
Glu-D1	۵+۱۰	۹/۲۵۵	۱/۱۸۸	۰/۱۵۴	۰/۱۵۴	۱۹/۹۰۵
Glu-B1	۱۷+۱۸	۷/۹۶۳	۱/۷۹۶	۰/۰۵۸	۰/۲۱۲	۱۵/۹۹۰
Glu-B1	۷+۸	۵/۶۵۳	۱/۶۰۳	۰/۰۵۰	۰/۲۶۲	۱۳/۴۸۷
Glu-A1	نول	-۳/۴۶۱	۱/۱۲۴	۰/۰۵۲	۰/۳۱۴	۱۷/۷۱۶

REFERENCES

1. Bietz. J.A., K.W. Shepherd, & J.C. Wall. 1975. Single kernel analysis of glutenin: Use in wheat genetics and breeding. *Cereal Chem* 52: 513-532.
2. Blumenthal. C., C. W. Wrigley., I. L. Baty, & E.W.R. Barlow. 1994. The heat shock response relevant to molecular and structural changes in wheat yield and quality . *Aust. J. Plant Physiol.* 21: 901-909.
3. Doekes.G.J., & L.M.J. Wennekes. 1982. Effect of nitrogenfertilization on quantity and composition of wheat flour protein. *Cereal Chem.* 59:276-278.
4. Graybosch. R.A., C.J.Peterson., J. H. Lee, & D. R. Shelton. 1994. Effect of glutenin protein polymorphisms on breadmaking quality of winter wheats. *Crop Sci.* 34:628-635.
5. Hea. G. Y., H. D. Jonesb., R. D'Ovidioc., S. Mascic., M. Chenab., J. Westb., B. Butowd., O. D. Andersone., P. Lazzerif., R. Fidob, & P. R. Shewry. 2005. Expression of an extended HMW subunit in transgenic wheat and the effect on dough mixing properties. *Journal of Cereal Science* 42: 225-231.
6. Gupta. R. B., I. L. Batey, & F. M. Ritchie. 1992. Relationships between protein composition and functional properties of wheat flour. *Cereal Chem.* 69:125-131.
7. Gupta. R. B., K. Khan, & F. M. Ritchie. 1993. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in the quantity and size distribution of polymeric protein. *J. Cereal Sci.* 18:23-41.

8. Hosenev. R. C., K.F. Finney., M. D. Shogren, & Y. Pomeranz. 1969. Functional (breadmaking) and Biochemical properties of wheat flour components . III. Characterization of gluten protein fractions obtained by ultracentrifugation. *Cereal Chem.* 46:126-135.
9. Johansson, E., P. Henriksson., G. Svensson, & W. K. Henneen. 1993. Detection, chromosomal location and evaluation of the functional value of a novel high Mr glutenin subunit found in Swedish Wheat. *J. Cereal Sci.* 17:154-158.
10. Khatkar, B. S., & J. S. Schofield. 1997. Molecular and physicochemical basis of breadmaking-properties of wheat gluten proteins : A critical appraisal. *J. Food Sci. Technol.* 34:85-102.
11. Lukow, O.M., P.I. Payne & R. Tkachuk, 1989. The HMW glutenin subunit composition of Canadian wheat cultivars and their association with bread-making quality. *J. Sci Food Agric* 46:451-460.
12. MacRitchie, F., 1987. Evaluation of contributions from wheat protein fractions to dough mixing and breadmaking. *J. Cereal Sci.* 6:259-268.
13. MacRitchie, F., 1992. Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. *Adv. Food Nutr. Res.* 36:1-87.
14. MirAli, N., M. I. Arabi., & B. Al-Safadi. 1999. The high molecular weight glutenin subunit composition of Syrian grown bread wheat and its relationships with gluten strength. *J. Genet. Breed.* 53:237-245.
15. Morgunov, A.I., R.J. Pena, J. Crossa & S. Rajam, 1993. Worldwide distribution of Glu-1 alleles in bread wheat. *J. Genet & Breed* 47: 53-60.
16. Najafian. G. & S. Abd-mishani. 1995. Relationship between High Molecular Weight Glutenin and bread making quality of Iranian grown wheat variety. *Iranian journal of Agriculture Science.* 26: 1-14.
17. Najafian. G., S. Abd-mishani, & B. Yazdi-samadi. 1997. Effect of allelic variation for High Molecular Weight Glutenin subunit on bread making quality of breeding lines of wheat. *Iranian journal of Agriculture Science.* 28: 31-40.
18. Payne, P.I., 1987. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Ann Rev Plant Physiol* 38: 141-153.
19. Payne. P. I., K. G. Corfield, & J. A. Blackman. 1979. Identification of high molecular weight subunits of glutenin whose presence correlates with bread making quality in wheat of related pedigree. *Theor Appl Genet* 55:153-159.
20. Payne. P. I., K. G. Corfield., L. M. Holt & J. A. Blackman. 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. *J. Sci. Food Agri.* 32:51-60.
21. Payne, P.I., L.M. Holt, E.A. Jackson & C.N. Law, 1984. Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Phil Trans R Soc Lond B* 304: 359-371.
22. Payne, P.I., L.M. Holt, K. Harinder, D.P. McCartney & G.J. Lawrence. 1987. The use of near-isogenic lines with different HMW glutenin subunits in studying bread-making quality and glutenin structure. In: R. L'osztity & F. Békés (Eds.), *Proc. 3rd Int. Workshop Gluten Proteins*, pp. 216-226. World Scientific, Singapore.
23. Payne. P. I., L. M. Holt., & G. J. Lawrence. 1983. Detection of a novel high molecular weight subunit of glutenin in some Japanese hexaploid wheats. *Journal of Cereal Science* 1, 3-8.
24. Payne, P. I., M. A. Nightinal., A. F. Krattiger, & L. M. Holt. 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *J. Sci. Food Agri.* 40:51-46.
25. Payne, P. I., Rogers, W. J., Seeking, J.A., & Sayers, E. J. 1991. Effect on breadmaking quality of x-type and y-type high molecular weight subunits glutenin. *J. Cereal Sci.* 14:209-221.
26. Pechanek, U., A. Karger, S. Groger, B. Charvat, G. Schoggle, & T. Lelly. 1997. Effect of nitrogen fertilization on quantity of flour protein components, dough properties , and breadmaking quality of wheat. *Cereal. Chem.* 74:800-805.

27. Perron, C. E., Lukow, O. M., & Townley-smith, F. 1998. The use of doubled haploids to investigate the effect of endosperm protein on dough mixing and baking properties. *proc. 9th Int. wheat Genet. Symp.* 4:248-250.
28. Pritchard, P. E., & Brock, C. J. 1994. The glutenin fraction of wheat protein: The importance of genetic background on its quantity and quality. *J. Sci. Food Agric.* 65:401-406.
29. Quick, J.S. & B. I. Donnelly. 1980. A rapid test for estimation of durum wheat gluten quality. *Crop Sci.* 20:816-818.
30. Rogers, W.J., P.I. Payne & K. Harinder, 1989. The HMW glutenin subunit and gliadin compositions of German-grown wheat varieties and their relationship with bread-making quality. *Plant Breeding* 103: 89–100.
31. Sadeghzadeh. B., M. R. Ghannadha, P. Ahmadian Tehrani, S. Abdmishani & B. E. Seied Tabatabaei. 2002. Determination of relationship between HMW-GS and wheat baking quality through Electrophoresis. *Iranian journal of Agriculture Science.* Vol 33, No 3, 535-542.
32. Bahraei, S., A. Saidi & D. Alizadeh. 2004. High molecular weight glutenin subunits of current bread wheats grown in Iran. *Euphytica* 137: 173–179.
33. Shewry, P. R., N. G. Halford., & A. S. Tatham. 1992. High molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 15:105-120.
34. Shewry, P.R., Tatham, A.S., Baro, F., Barcelo, P., & Lazeri, P. 1995. Biotechnology of breadmaking: Unravelling and manipulating the multi-protein gluten complex. *Biotechnology*, 13:1185–1190.
35. Tahir, M. & D. Lafiandra, 1994. Assessment of genetic variability in hexaploid wheat landraces of Pakistan based on polymorphism for HMW-glutenin subunits. In: *Biochemical Evaluation of Plant Genetic Resources*, Final Technical Report, Dept. of Agrobiolgy and Agrobiochemistry, University of Tuscia, Viterbo, Italy, pp. 33–44.