Archive of SID

ژنتیک نوین
دوره چهاردهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸
صفحه ۸٤ - ۷۹

تعیین ژنوتیپ نسل F_2 با نشانگرهای EST-SSR مرتبط با زیرواحدهای گلوتنین در یک تلاقی بین دو رقم گندم

Genetic analysis of F_2 by using EST-SSR markers associated with Glutenin subunits in a cross between two wheat cultivars

سیده مریم یوسف موسوی[۱]، بهرام ملکی زنجانی*[۱]، عباس بهاری[۱]

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

Yousef mousavi SM[1], Maleki Zanjani B[*1], Bahari A[1]

1- PhD Student, Associate Professor, Assistant Professor, Department of agronomy and plant breeding , Faculty of agriculture, University of Zanjan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bmalekiz@znu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹٦/۱۲/۰۷ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۱۵)

چکیده

گندم نان به علت پتانسیل بالا و خصوصیات فیزیکی خاص پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه که امکان تولید انواع محصولات غذایی را فراهم می‌کند، مورد توجه است. ترکیب کلیدی آندوسپرم شامل پروتئین‌های گلوتن است که ترکیبی از گلوتنین و گلیادین هستند و کیفیت نانوایی آرد گندم را تعیین می‌کند. دسترسی به منابع ژنتیکی و داشتن اطلاعاتی درباره‌ی ساختار ژنتیکی و نحوه‌ی توارث صفات برای تولید واریته‌هایی با عملکرد بالا ضروری می‌باشد. نشانگرهای EST-SSR مرتبط با ژن‌های HMW-گلوتنین و LMW-گلوتنین جهت تجزیه ژنتیکی و بررسی میزان تنوع ژنتیکی ۷۰ گیاه نسل F_2 حاصل از تلاقی دو واریته گندم نان (گلستان و خزر یک) مورد استفاده قرار گرفتند. از تعداد ۹ باند حاصل از نشانگرهای EST-SSR، ۷ باند چند شکل نشان دادند که بیش از ۷۰ درصد پلی مورفیسم را شامل شد. هم‌چنین جهت ارزیابی تنوع مندلی بین نتاج F_2 از این نشانگرها استفاده شد که طبق $\chi 2$ به‌دست آمده با احتمال ۹۵ درصد تعداد افراد مشاهده شده و مورد انتظار تفاوت معنی‌داری با همدیگر نداشتند و در نسل F_2 از لحاظ تعداد قطعات تکثیر شده تنوع مندلی با نسبت‌های ۱:۲:۱ مشاهده شد و گروه‌بندی افراد با روش دوتایی افراد مورد بررسی را به چهار گروه تقسیم کرد که F_1 و هر دو والدین در گروه‌های مجزا قرار گرفتند که پتانسیل بالای این تنوع برای انتخاب بر مبنای کیفیت برتر نانوایی در نتایج حاصل از ارقام مورد بررسی را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی
کیفیت نانوایی
گلوتنین
گندم نان
EST-SSR

www.SID.ir

Archive of SID

گندم نان (*Triticum aestivum*) یکی از مهم‌ترین غلات جهان در زمینه‌های تولید و استفاده می‌باشد و به‌علت دارا بودن قابلیت سازگاری بالا با دامنه وسیعی از شرایط آب و هوایی و بهبود کیفیت دانه برای تولید آرد نان به یک محصول پایدار جهانی تبدیل شده‌است (Jia et al. 2013). کیفیت گندم به میزان زیادی تحت تاثیر محتوای پروتئین و نشاسته دانه است که خواص آرد و خمیر را تعیین می‌کند. ترکیب کلیدی آندوسپرم شامل پروتئین‌های گلوتن است که ترکیبی از گلوتنین و گلیادین هستند (Deng et al. 2013). پروتیئن گلوتنین دارای دو زیرواحد پروتئینی با وزن مولکولی متفاوت، گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS)[1] و گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS)[2] می‌باشد (Mihaliket al. 2012). HMW-GSها بر اساس اثرات ساختاری‌شان به‌عنوان تعیین‌کننده‌ای بزرگ در رابطه با کشش‌پذیری و چسبندگی خمیر و متعاقبا کیفیت فرآوری گندم نان و ماکارونی فعالیت می‌کنند و این خانواده‌ی ژنی اشکال اللی مختلف را که با خواص قوی یا ضعیف بودن خمیر مرتبط هستند کد می‌کنند (Jianget al. 2010).استفاده از واریته‌های اصلاح شده با عملکرد بالا و کیفیت قابل قبول منجر به کاهش تنوع ژنتیکی و از دست رفتن بسیاری از ژن‌های مفید شده‌است که در نهایت این کاهش سریع ذخایر ژنتیکی موجب آسیب‌پذیری محصولات زراعی در برابر شرایط محیطی نامناسب و تنش‌های زنده و غیرزنده می‌شود (OsamnyandSiosemardeh 2009). یکی از روش‌های ایجاد تنوع انجام تلاقی بین دو رقم می‌باشد. تنوع وانتخاب دو رکن اصلی هر برنامه اصلاحی بوده و تنوع ژنتیکی مبنای همه گزینش‌ها است (Casaet al. 2005).نشانگر SSR[3] به دلیل داشتن مزایای بسیاری مانند توزیع مناسب در ژنوم، چند شکلی بالا، چندالللی بودن و توارث هم‌بارز به‌عنوان نشانگری کارآمد در شناسایی ارقام، انگشت‌نگاری DNA، تعیین تنوع ژنتیکی و بررسی روابط ژنتیکی توده‌ها مطرح می‌باشد (Wanget al. 2005). از آنجایی‌که EST-SSR[4]ها متعلق به بخش‌های بیان شده‌ی ژنوم هستند بنابراین چند شکلی منعکس شده توسط این نشانگرها می‌تواند روابط بین گونه‌ها و واریته‌ها را با کارایی بالاتری مشخص کند (Wanget al. 2007). اگر یک نشانگر EST پیوسته با صفت موردنظر پیدا شود این نشانگر می‌تواند امکان دست‌یابی به ژن و ردیابی ژن را فراهم کند و نقش نشانگرهای ژنتیکی را در ارزیابی تغییرات رونوشت‌های ژن و فعالیت‌های شناخته شده‌ی ژن افزایش می‌دهد (Yu et al. 2004).در پژوهش حاضر برای دستیابی به تنوع ژنتیکی از لحاظ کیفیت نانوایی دو رقم گلستان و خزر یک تلاقی داده شد. Akbari Rad et (2010) al. در مطالعه ۸۵ لاین امیدبخش و رقم تجارتی گندم نان رقم گلستان را در گروه ارقام دارای بیشترین میزان درصد پروتئین (۱۳ درصد) و رقم خزر یک را در گروه ارقام دارای کمترین میزان پروتئین(۱۱ درصد) دسته‌بندی کردند. Gupta et al. (1996) نیز گزارش کردند که بالا بودن میزان پروتئین آرد منجر به افزایش قابلیت کشش در خمیر می‌شود و همچنین بیان کردند که ۲۰ درصد از تغییرات مربوط به خواص کیفی نان از طریق میزان پروتئین آرد قابل توجیه است و بر اساس گزارش (2010) Akbari Rad et al. در گروه‌بندی ارقام گندم از لحاظ یکسری صفات کیفیت نانوایی این دو رقم در گروه‌های متفاوتی قرار گرفتند و از آنجایی که گلوتنین در کیفیت نانوایی نقش کلیدی دارد، افرادF_1[5] و F_2[6] به‌همراه والدین در سیستم مارکری SSR مبتنی بر ESTهای زیرواحدهای HMW و LMW ژن گلوتنین مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به اینکه در نسل F_2 بذر کافی برای انجام الکتروفورز پروتئین موجود نبود از نشانگر DNA جهت بررسی تنوع در نسل F_2 استفاده شد. هدف از این مطالعه دست‌یابی به تنوع از لحاظ صفات مرتبط با کیفیت نانوایی می‌باشد از این رو تلاقی بین دو رقم گندم که از لاین‌های امیدبخش و ارقام تجارتی در ایران بودند، صورت گرفت و تنوع ژنتیکی نتاج F_2 حاصل از تلاقی بین دو رقم گلستان و خزر یک بررسی شد.

استخراج DNA ژنومی بافت برگ از طریق روش دلاپورتا انجام شد (Dellaportaet al. 1983). جهت بررسی تنوع ژنتیکی در

[1] Low molecular wheightglutenin subunit
[2] High molecular wheightglutenin subunit
[3] Simple sequence repeat
[4] Expressed sequence tag- simple sequence repeat

[5] نسل اول، Filial 1
[6] نسل دوم، Filial 2

www.SID.ir

Archive of SID

نسل‌های والدین، F_1و F_2 از سه جفت آغازگر که از نواحی EST طراحی شده بود استفاده شد که ارتباط بین این نواحی EST و ژن HMW-گلوتنین گزارش شده‌است (Gadaletaet al. 2009). در جدول ۱ مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه آورده شده‌است. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر از یک میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانوگرم بر مول و یک میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای پیشرو و پسرو با غلظت ۱۰ پیکومول، ۱۲/۵ میکرولیتر 2x[1] Master Mix RED و ۹/۵ میکرولیتر آب‌مقطر استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹٤°C به مدت چهاردقیقه، سپس ۳۵ چرخه که هر چرخه شامل سه مرحله بود طرح‌ریزی شد. مرحله اول مرحله واسرشته‌سازی در دمای ۹٤°C به مدت یک دقیقه انجام شد، مرحله دوم مرحله اتصال آغازگرها به رشته الگو است که این مرحله در۱۰ چرخه اول به صورت Touch Down برنامه‌ریزی شده بود به این صورت که دمای اتصال آغازگرها به رشته الگو ۱۰°C بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و از چرخه اول تا دهم با کاهش یک درجه سانتی‌گراد از دمای اتصال همراه بود و از چرخه ۲۵ به بعد دمای اتصال آغازگرها به دمای اتصال واقعی رسید. در ۲۵ چرخه بعدی دمای اتصال ثابت و برحسب دمای اتصال آغازگر به رشته الگو و به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. مرحله سوم مرحله بسط توالی مورد نظر بود که در دمای ۷۲°C و به مدت ٤۵ ثانیه انجام شد. در نهایت یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲°C و به مدت ۸ دقیقه به چرخه حرارتی اضافه شد. تفکیک محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل متافور آگارز ٤٪ با ولتاژ ۸۰ ولت و به مدت ۱۱۰ تا ۱۲۰ دقیقه انجام شد. جهت تجزیه داده‌ها هر باند به‌عنوان یک صفت تعریف شد. فاصله ژنتیکی برای تمامی ترکیبات جفتی از طریق ضریب تشابه جفتی جاکارد محاسبه شد (Jaccard 1908). برای نمایش ساده‌ی فاصله‌ی ژنتیکی افراد از روش UPGMA استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 23 استفاده شد.

مطالعات نشان دادند که EST-SSRها سطح بالایی از انتقال‌پذیری را برای خویشاوندان نزدیک و وحشی گندم نشان می‌دهند چون این نشانگرها از نواحی کدکننده‌ی محافظت شده طراحی شده‌اند، با اینکه چندشکلی کمتری نسبت به نشانگرهای SSR ژنومی نشان می‌دهند ولی برای ارزیابی کیفیت بالایی تولید می‌کنند (Eujaylet al.2001) با این حال در تحقیق حاضر بیش از ۷۰ درصد از کل باندها چندشکلی نشان دادند که این درصد سطح بالایی از چندشکلی این نشانگر را نشان می‌دهد. استفاده از EST-SSRها جهت ژنوتایپینگ گندم در تحقیقات دیگر به‌منظور تعیین ارقام مقاوم به زنگ زرد در گندم (Hasancebi et al. 2014) و ارقام مقاوم به بیماری سفیدک پودری (Saidouet al. 2016) گزارش شده‌است و برای نشان دادن چندشکلی بین افراد جمعیت F_2 حاصل از تلاقی دو واریته Brrasicarapa نیز از نشانگرهای EST-SSR استفاده شده‌است (Wuet al. 2014). در نشانگر CA679329 سه الل با اندازه‌ی باندهای ۲۲۵، ۲٦۰ و ۲۸۰ مشاهده شد (شکل۲). بیش‌ترین تعداد الل مشاهده شده در ارقام گندم نان مورد مطالعه مربوط به مکان ژنی BQ607256 با چهار الل و کم‌ترین تعداد الل مربوط به مکان ژنی TC84551 می‌باشد که دو الل را نشان می‌دهد.

[1] مخلوط آماده واکنش زنجیره‌ای پلیمراز قرمز

جدول۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه

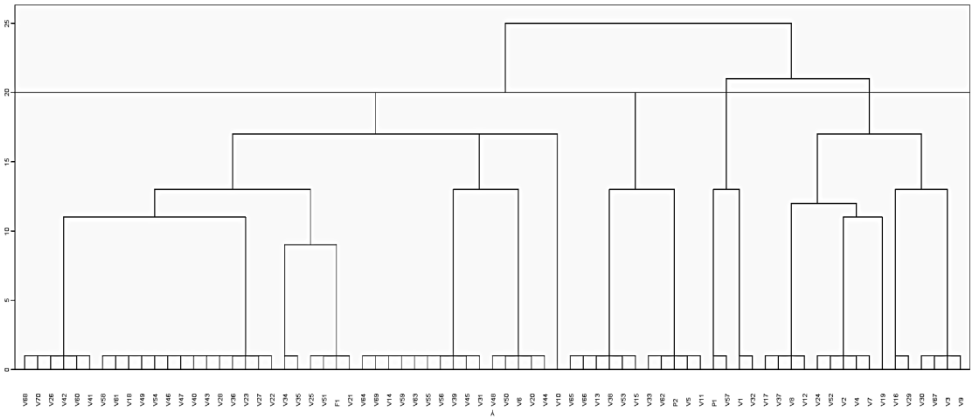
توالی تکراری	دمای اتصال	نواحی EST	آغازگر پسرو	آغازگر پیشرو	آغازگر
AAC	٦۰	HMW-گلوتنین	ATTAGTTTCCGTCCGTGCAG	ACAGGAGCCTCCAACACAAC	CA679329
AAC	٦۰	LMW-گلوتنین	CAAAATGGTGGTTGTTGCTG	GCATTCCTGGTTTGGAGAGA	BQ607256
AAC	٦۱	HMW-گلوتنین	TAGCTGCTGCAAAATGGATG	ATCAAAGGCAAGCAAGCAGT	TC84551

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲- نسبت‌های مشاهده شده و مورد انتظار افراد در نسل F_2

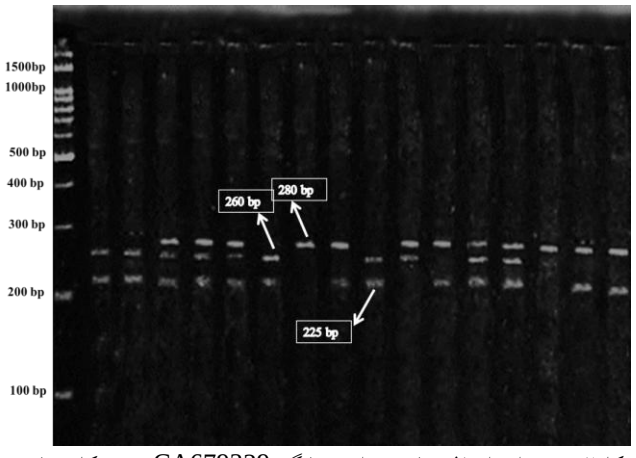
	نسبت‌های مشاهده شده (o_i)	نسبت‌های مورد انتظار (e_i)	$(o_i-e_i)^2$	$(o_i-e_i)^2/e_i$
افراد با اندازه قطعه ۲۶۰	۱۵	۱۷/۵	٦/۲۵	۰/۳۵۷
افراد با اندازه قطعه ۲۸۰	۱۷	۱۷/۵	۰/۲۵	۰/۰۱٤
افراد با اندازه قطعه ۲٦۰ و ۲۸۰	۳۸	۳۵	۹	۰/۲۵۷
$\sum$	۷۰	۷۰	۱۵/۵	۰/٦۲۸



شکل۱- دندروگرام به‌دست آمده از طریق روش UPGMA با استفاده از ضریب تشابه جاکارد برای افراد نسل F_2، F_1 و والدین بر اساس نشانگرهای EST-SSR مرتبط با زیرواحدهای گلوتنین

به‌طور کلی تعداد ۹ الل برای سه مکان ژنی با تعداد متوسط الل‌های مشاهده شده‌ی ۳ برای هر مکان ژنی در ارقام گندم مورد بررسی به‌دست آمد. Akfirat and Uncuoglu (2013) نیز در مطالعه‌ای بر روی ژنوتیپ‌های گندم با استفاده از ۲۰ مارکر SSR تعداد الل‌ها برای هر مکان ژنی را بین ۱ تا ۱۸ با میانگین اللی ۳/۰۵ گزارش کردند که این نتیجه به میانگین اللی به‌دست آمده در این تحقیق نزدیک می‌باشد. همچنین Mardi et al. (2011) با استفاده از ۱۹ نشانگر SSR در ۱۲۲ واریته‌ی بومی گندم دوروم ایرانی (*Triticumturgidum*L.) میانگین اللی ۵/۵ را برای هر جایگاه ژنی گزارش کردند و نشان دادند که تعداد الل‌ها از دو الل تا ده الل در جایگاه‌های ژنی SSR متغیر است و در مطالعه‌ای دیگر بر روی گندم نان تعداد ۲ تا ۱۱ الل EST-SSR با میانگین اللی ٤/۷ گزارش شد (Fujita et al. 2009).

آغازگر CA679329 قطعاتی چندشکل با اندازه‌های ۲٦۰ و ۲۸۰ تکثیر کرد و با توجه به اینکه قطعه‌ی ۲٦۰ در یکی از والدین و قطعه‌ی ۲۸۰ در والد دیگرتکثیر شد و در نسل F_1 هر دو قطعه تکثیر شدند می‌توان وجود توارث هم‌بارز را در این آغازگر مورد آزمون قرار داد.



شکل۲- نمونه‌ای از ژل متافور برای نشانگر CA679329. در شکل نمایه‌ی اول لدر را نشان می‌دهد و نمایه‌های بعدی به‌ترتیب ارقام ۱ تا ۱٦ را نشان می‌دهند.

www.SID.ir

Archive of SID

بر اساس تنوع مندلی انتظار است تا نسبت ۱:۲:۱ بین نتاج F_2 مشاهده شود و برای بررسی اینکه آیا فراوانی توزیع افراد F_2 از لحاظ تعداد قطعات تکثیر شده از تنوع مندلی تبعیت می‌کند یا نه از آزمون χ^2 استفاده شد. در جدول (۲) تعداد افراد مشاهده شده و افراد مورد انتظار نوشته شده‌است.

χ^2 در سطح احتمال یک درصد با درجه آزادی ۲، ٤/٦٠٥ می‌باشد و χ^2 در این بررسی ۰/٦۲۸ محاسبه شده‌است که از χ^2 جدول کوچکتر است و این نشانگر این است که افراد F_2از نظر توزیع اندازه‌ی این قطعات با احتمال ۹۹ درصد از تنوع مندلی تبعیت می‌کنند. تجزیه خوشه‌ای یکی از روش‌های آماری چند متغیره است که برای تعیین تنوع بین جوامع مختلف گیاهی و جانوری ودسته‌بندی آن‌ها به گروه‌های مختلف بر اساس فاصله ژنتیکی و یا تشابه ژنتیکی به‌کار گرفته می‌شود (Romesburg, 2004). در این مطالعه گروه‌بندی افراد F_2 بر اساس اطلاعات اللی حاصل از هر سه آغازگر توسط تجزیه خوشه‌ای انجام شد و برای گروه‌بندی افراد از روش UPGMA[1] با استفاده از ضریب تشابه jaccard استفاده شد و در نهایت دندروگرام مربوط به افراد مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار SPSS رسم شد. افراد در سطح تشابه ۸۰ درصد به ٤ گروه تقسیم می‌شوند که در این گروه‌بندی P_1، P_2 و F_1 در گروه‌های مجزا قرار گرفتند و بیش‌ترین افراد در گروه اول قرار دارند که نسل F_1 نیز در همین گروه دسته‌بندی شده‌است (شکل۱). امروزه استفاده از نشانگرهای مولکولی امکان بررسی تنوع ژنتیکی را مستقیما در سطح DNA فراهم می‌سازند بنابراین می‌توانند جهت تائید فرضیه وجود یا عدم وجود تنوع ژنتیکی میان افراد تحت آزمایش مورد استفاده قرار گیرند به‌طوری که در مطالعات مشابهی نیز گروه‌بندی و ارزیابی تنوع ژنتیکی پنبه‌های متحمل به شوری (Wanget al. 2014) و بررسی تنوع ژنتیکی و خویشاوندی واریته‌های گوجه فرنگی (Koriret al. 2014) به‌کمک نشانگرهای مولکولی EST-SSR انجام گرفت.

تنوع ژنتیکی زیر واحدهای گلوتنین به‌دست آمده در این پژوهش با تلفیق تحقیق موازی که بر روی تغییرات پروتئینی گلوتنین در والدین و F_1 و F_2 در حال انجام است، می‌تواند در انتخاب یک جمعیت با کیفیت نانوایی بالا در یک برنامه‌ی اصلاحی و در نهایت تولید یک رقم با کیفیت نانوایی مطلوب در نسل‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

این پژوهش در پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان و آزمایشگاه ژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام گرفت که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

[1] Unweighted pair group method with arithmetic mean

منابع

Akbari Rad M, Najafian G, Moghadam M and Khodarahmi M(2010) Study of genetic variation in baking quality related characteristics in bread wheat advanced lines and commercial cultivars. Iranian Journal of Crop Science12: 213-226.(In Farsi).

Akfirat FS and Uncuoglu AA (2013) Genetic diversity of winter wheat (Triticum aestivum L.) revealed by SSR markers. Biochemical Genetics 51: 223-229.

Casa A, MitchellS, HamblinM, SunH, BowersJ, PatersonA, Aquadro C and Kresovich S(2005) Diversity and selection in sorghum: simultaneous analyses using simple sequence repeats. Theoretical and Applied Genetics111: 23-30.

Dellaporta SL, Wood J and Hicks JB(1983) A plant DNA minipreparation: version II. Plant Molecular Biology Reporter 1: 19-21.

Deng Z, HuS, Zheng F, ChenJ, ZhangX, ChenJ, SunC, ZhangY, Wang S and Tian J (2013) Genetic dissection reveals effects of interaction between high-molecular-weight glutenin subunits and waxy alleles on dough-mixing properties in commonwheat. Journal of Genetics 92: 69-79.

Eujayl I, Sorrells M, Baum M, Wolters P and PowellW(2001) Assessment of genotypic variation among cultivated durum wheat based on EST-SSRs and genomic SSRs. Euphytica 119: 39-43.

Fujita Y, Fukuok H and Yano H (2009) Identification of wheat cultivars using EST-SSR markers. Breeding Science 59: 159-167.

Gadaleta A, GiancasproA, GioveS, ZacheoS, ManginiG, SimeoneR, Signorile A and Blanco A (2009) Genetic and physical mapping of new EST-derived SSRs on the A and B genome chromosomes of wheat. Theoreticaland applied genetics 118: 1015-1025.

Gupta RB, MasciS, Lafiandra.D, Bariana HS and MacRitchie F (1996) Accumulation of protein subunits

www.SID.ir

Archive of SID

and their polymers in developing grains of hexaploid wheats. Journal of Experimental Botany 47: 1377-1385.

Hasancebi S, Mert Z, Ertugrul F, Akan K, Aydin Y, Akfirat FSand Uncuoglu AA (2014) An EST-SSR Marker, bu099658, and its Potential Use in Breeding for Yellow Rust Resistance in Wheat. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 50: 11-18.

Jaccard P (1908) Nouvelles recherches sur la distribution florale. Bulletin de la SocieteVaudoise des Sciences Naturelles (44): 223-270.

Jia J, Zhao S, Kong X, Li Y, Zhao G, He W, Appels R, Pfeifer M, Tao Y and Zhang X (2013) Aegilops tauschii draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. Nature 496: 91-95.

Jiang QT, Wei YM, Lu ZX, Pu ZE, Lan XJ and Zheng YL (2010) Structural variation and evolutionary relationship of novel HMW glutenin subunits from Elymus glaucus. Hereditas147: 136-141.

Korir NK, Diao W, Tao R, Li X, Kayesh E, Li A, Zhen W and Wang S(2014) Genetic diversity and relationships among different tomato varieties revealed by EST-SSR markers. Geneticsand Molecular Research 13: 43-53.

Mardi M, Naghavi M, Pirseyedi S, Kazemi Alamooti M, Rashidi Monfared S, Ahkami A, Omidbakhsh M, Alavi N, Salehi Shanjani P and Katsiotis A (2011) Comparative assessment of SSAP, AFLP and SSR markers for evaluation of genetic diversity of durum wheat (Triticum turgidum L. var. durum). Journal of Agricultural Science and Technology 13: 905-920. (inFarsi).

Mihalik D, Gregova E, Galuszka P, Ohnoutkova L, Klempova T, Ondreickova K, Gubisova M, Gubis J and Kraic J (2012) Characterisation of a Novel High-Molecular-Weight Glutenin Subunit 1Dy12. 3 from Hexaploid Wheat. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 48:157-168.

Osamny Z and Siosemardeh A (2009) A Study of Genetic Diversity in Sardari Wheat Ecotypes Using AFLP Markers and Agronomic Traits.Journal of Science and Technology ofAgriculture andnaturalResources 13:301-320.

Romesburg C (2004) Cluster analysis for researchers.Lulu.com 340 pp.

Saidou M, Wang C, Alam MA, Chen C, Ji W and Shaanxi C (2016) Genetic analysis of Powdery Mildow resistance gene using SSR markers in commen wheat originated from wiled emmer (Triticum dicoccoides Thell). Turkish Journal of Field Crops 21:10-15.

Wang B, Zhu P, Yuan Y, Wang C, Yu C, Zhang H, Zhu X, Wang W, Yao C and Zhuang Z (2014) Development of EST-SSR markers related to salt tolerance and their application in genetic diversity and evolution analysis in Gossypium. Genetics and Molecular Research 13: 3732-3746.

Wang HY, Wei YM, Yan ZH and Zheng YL (2007) EST-SSR DNA polymorphism in durum wheat (Triticum durum L.) collections. Journal of Applied Genetics48: 35-42.

Wang Y, Luo J, Xue X, Korpelainen H and Li C (2005) Diversity of microsatellite markers in the populations of Picea asperata originating from the mountains of China. Plant Science 168: 707-714.

Wu W, Zhou B, Luo D, Yan H, Li Y and Kawabata S (2014) Development of simple sequence repeat (SSR) markers that are polymorphic between cultivars in Brassica rapa subsp. rapa. African Journal of Biotechnology 11.: 2654-2660.

Yu JK, Dake TM, Singh S, Benscher D, Li W, Gill B and Sorrells ME (2004) Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. Genome. 47: 805-818.

www.SID.ir