

## ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از ارقام گندم بهاره و پاییزه با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره

بهمن فاضلی نسب<sup>۱\*</sup>، بهمن یزدی صمدی<sup>۲</sup>، محمدرضا نقوی<sup>۳</sup> و محسن مردی<sup>۴</sup>

\* نویسنده مسؤول: دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه تهران (Bfazelinasab@Gmail.com)

۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

۴- عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۱۹

تاریخ دریافت: ۸۷/۱/۲۹

### چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی رابطه ژنتیکی و امکان تفکیک ۲۱ رقم و لاین گندم بهاره و پاییزه ایرانی در سطح مولکولی از ۳۷ جفت آغازگر ریزماهواره استفاده شد. میانگین شاخص چندشکلی و میزان اطلاعات چندشکلی هر آغازگر ریزماهواره بترتیب ۰/۶۸ و ۰/۶۳ برای آنها به دست آمد. شباهت ژنتیکی با استفاده از دو روش جاکارد و نی و لی محاسبه و به ترتیب میانگین ۰/۲۰۱ و ۰/۳۲۸ برای آنها به دست آمد. در هر دو روش ارقام قدس و الوند دارای بیشترین میزان شباهت و ارقام بولانی و نیک نژاد دارای کمترین میزان شباهت بودند. تعداد آلل تولید شده از دو تا ۱۰ متغیر و میانگین تعداد آلل در هر جایگاه ۵/۳۷ و در مجموع ۱۹۹ آلل تکثیر شد. ژنوتیپ ها با استفاده از دو ضریب تشابه جاکارد و نی و لی و روش تجزیه خوشه ای UPGMA گروه بندی شدند و ۲۱ ژنوتیپ گندم در ۴ گروه قرار گرفتند؛ ضمناً اکثر ارقام از لحاظ بهاره و پاییزه بودن از همدیگر تفکیک شدند. نتایج به دست آمده نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره قادر است چندشکلی بسیار بالا، مطمئن و قابل تکراری را نمایان سازد.

کلید واژه ها: گندم، بهاره و پاییزه، ریزماهواره، شباهت ژنتیکی، تنوع ژنتیکی

### مقدمه

مورد استفاده قرار گرفته اند که هر کدام دارای مزایا و معایب خاص خود می باشند. نشانگرهای دی ان ا علاوه بر نواحی رمز کننده، تفاوت های بین نواحی غیر رمز کننده ژنوم را نیز آشکار می سازند. در بین نشانگرهای دی ان ا، ریزماهواره ها، مطمئن و تکرار پذیر است و به آسانی در جنبه های مختلف بیولوژی مولکولی، اصلاح نباتات و برنامه های به نژادی مورد استفاده قرار می گیرد (۲ و ۱۸).

ریزمهواره ها توالی های تکراری ۲-۶ نوکلئوتیدی هستند که به نام دی ان ا تکرار شونده، توالی های تکراری ساده و توالی های تکراری کوتاه

گندم گیاهی آلوهگزاپلوئید قطعه ای، یکساله، تک لپه، خودگشن، از تیره غلات، خانواده گندمیان، جنس تریتیکوم و دارای سه گروه ۱۴، ۲۸ و ۴۲ کروموزومی با فرمول ژنومی AA، ABB و AABBDD است. ژنوم گندم بسیار بزرگ، شامل  $16 \times 10^9$  جفت باز می باشد و دارای حدود ۸۰ درصد دی ان ا تکراری با متوسط ۸۱۰ مگا جفت باز در هر کروموزوم با طول ۱۰ میکرومتر است (۸).

نشانگر های مختلفی از قبیل صفات مورفو- لوژیک، نشانگرهای بیوشیمیایی و دی ان ا در برنامه های اصلاحی و گروه بندی ذخایر ژنتیکی گندم

و همکاران<sup>۵</sup> (۱۳)، ۵۸ جمعیت گندم دوروم را با استفاده از ۷۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد مقایسه قرار دادند، تعداد آلل را از دو تا ۱۲ متغیر و در مجموع ۳۹۴ آلل تکثیر و شباهت ژنتیکی در تمام ارقام محاسبه و از ۰/۱۵ تا ۱ گزارش دادند.

هدف از این تحقیق بررسی چندشکلی و امکان تفکیک ۲۱ رقم و لاین بهاره و پاییزه و مشخص نمودن قابلیت های ریزماهواره جهت تشخیص شاخص چندشکلی و میزان اطلاعات چندشکلی در این ارقام می باشد.

### مواد و روش ها

#### مواد گیاهی

در این تحقیق از ۲۱ رقم و لاین گندم به نام های تجن، گلستان، سرداری، قدس، قفقاز، شاین، آذر<sup>۲</sup>، بولانی، الوند، طبسی، روشن، بزوستایا، فلات، ۵۱۸، مهدوی، زرین، شعله، نوید، امید، نیک نژاد و اینیاء مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱).

#### استخراج و تکثیر دی ان ا

استخراج دی ان ا ژنومی بر مبنای روش (۵) صورت گرفت. از بین تعداد زیادی آغازگر ریزماهواره گندم که توسط رودر و همکاران<sup>۶</sup> (۲۱) گزارش شده بود، تعداد ۳۷ جفت آغازگر مناسب برای این تحقیق انتخاب شد (جدول ۲). حجم واکنش ۲۰ ماکرولیتری بر اساس روش رودر و همکاران (۲۱) تهیه و واکنش زنجیره ای پلیمراس<sup>۷</sup> در دستگاه بایورد<sup>۸</sup> با برنامه زمانی ۵ دقیقه، واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، ۱۰ چرخه اولیه به صورت تاجدان<sup>۹</sup> (به طوری که دمای اتصال آغازگر ۱۰ درجه بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفت و به ازای هر چرخه ۱ درجه از دمای

معرفی گردیده اند (۱، ۷ و ۲۱). به تعداد فراوان و به صورت یکنواخت در سطح ژنوم یوکاریوت ها و در نواحی رمز کننده و غیر رمز کننده دی ان ا پراکنده اند (۴، ۷ و ۲۱). این جایگاه ها از تنوع بسیار بالای آللی برخوردار هستند و بر طبق قوانین مندل و به صورت همباز به نتاج منتقل می شوند (۱۸) و سطوح بسیار بالای چندشکلی را در تعداد توالی تکرار شونده از خود نشان می دهند (۷ و ۹).

ریزماهواره ها در گیاهان جهت تهیه نقشه ژنتیکی گندم، بررسی چند شکلی و مکان یابی ژن های کنترل کننده صفات مهم زراعی به کار برده شده است (۲، ۴، ۲۰ و ۲۱). پلاشک و همکاران<sup>۱</sup> (۱۷)، ۴۰ رقم گندم نان اروپایی را با استفاده از ۲۳ جفت آغازگر ریزماهواره مورد مقایسه قرار دادند، تعداد آلل از سه تا ۱۶ متغیر و میانگین ۶/۲ آلل در هر جایگاه تکثیر و میانگین شباهت ژنتیکی ۰/۲۹ به دست آوردند. پراساد و همکاران<sup>۲</sup> (۱۹)، ۵۵ ژنوتیپ گندم را با استفاده از ۲۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد مقایسه قرار دادند. تعداد آلل از یک تا ۱۳ متغیر و در مجموع ۱۵۵ آلل تکثیر و شباهت ژنتیکی در تمام ژنوتیپ ها محاسبه و از ۰/۰۵ تا ۰/۸۸ متغیر و میانگین ۰/۲۳ گزارش شدند و ۵۵ ژنوتیپ در دو گروه قرار گرفتند. کوبیلجسکی و همکاران<sup>۳</sup> (۱۱)، ۷۱۰ ژنوتیپ گندم را با ۳۶ جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند، تعداد آلل از سه تا ۲۵ متغیر و ژنوتیپ ها در دو گروه قرار گرفتند. پستسو و همکاران<sup>۴</sup> (۱۶)، ۱۱۳ جمعیت گندم تائوشی را با استفاده از ۱۸ جفت آغازگر ریزماهواره مورد مقایسه قرار دادند و در مجموع ۳۳۸ آلل تکثیر، شاخص چندشکلی را از ۰/۷۵ تا ۰/۹۵ گزارش دادند و جمعیت ها در دو گروه مختلف قرار گرفتند. ماکافری

5- Maccaferri *et al.*

6- Roder *et al.*

7 Polymerase Chain Reaction

8 Bio Rad iCycler Thermal Cycler

9 Touchdown

1- Plaschke *et al.*

2 - Prasad *et al.*

3 - Kobiljski *et al.*

4- Pestsov *et al.*

## جدول ۱- تیپ رشد ارقام و لاین های مورد استفاده

تیپ رشد	رقم	تیپ رشد	رقم
پایزه	۱۲- نوید	بهاره	۱- تجن
پایزه	۱۳- زرین	بهاره	۲- گلستان
پایزه	۱۴- شعله	بهاره	۳- بولانی
بهاره	۱۵- لاین ۵۱۸	پایزه	۴- الوند
بهاره	۱۶- اینیاء	پایزه	۵- سرداری
بهاره	۱۷- روشن	پایزه	۶- قفقاز
بهاره	۱۸- بزوستایا	پایزه	۷- لاین شاین
بهاره	۱۹- فلات	پایزه	۸- آذر ۲
پایزه	۲۰- قدس	بهاره	۹- طبسی
پایزه	۲۱- مهدوی	پایزه	۱۰- امید
		بهاره	۱۱- نیک نژاد

الگوی نواری بصورت حضور(یک) و عدم حضور (صفر) برای هر نوار با برنامه Quantity one Bio Rad laboratories Hercules, v.4.01 (CA USA) صورت گرفت. ماتریس تشابه با استفاده از دو ضریب تشابه جاکارد (۱۰) و نی و لی (۲۰) محاسبه گردید. شاخص چند شکلی<sup>۳</sup> (۳) که میزان آن از صفر تا یک بوده (۱) با استفاده از فرمول  $DI = 1 - \sum (P_j)^2$  فراوانی آلل زام در تمام ژنوتیپ های مورد استفاده) و میزان اطلاعات چندشکلی<sup>۴</sup> (۱۵) هر جایگاه ریزماهوره با استفاده از فرمول:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2$$

و  $P_j$  فراوانی آلل  $i$  ام و  $z$  ام در تمام ارقام و  $n$  مجموع تعداد آلل هر جایگاه محاسبه گردید. تجزیه خوشه ای با ترسیم دندروگرام بر اساس الگوریتم

اتصال کاهش یافت تا به دمای واقعی برسد) انجام شد. ۲۵ چرخه بعدی شامل ۳۰ ثانیه واسرشته سازی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، ۳۰ ثانیه در دمای  $x$  جهت اتصال آغازگرها (x بسته به نوع آغازگر ۵۰، ۵۵ یا ۶۰ درجه سانتیگراد مورد استفاده قرار گرفت)، ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد (جهت بسط) انجام گردید و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. فرآورده های پی سی آر به نسبت مساوی با رنگ فورمامید (۹۸ درصد) مخلوط و مقدار ۳-۵ میکرولیتر از آن برای ژل پلی اکريل امید واسرشته ساز استاندارد در دستگاه سکونسینگ<sup>۱</sup> و بافر TBE(1x) مورد استفاده قرار گرفت. رنگ آمیزی ژل پلی اکريل امید با استفاده از روش نیترا نقره بر اساس دستور کار شرکت پرومگا<sup>۲</sup> انجام شد (شکل ۱) (۲۳).

## تجزیه و تحلیل داده ها

3- Diversity Index  
4- Polymorphism Information Content

1- Bio Rad, Squi-Gen GT  
2- Promega USA



شکل ۱- الگوی نواری تولید شده توسط آغازگر Xgwm372

(شماره ها بیانگر ارقام و M بیانگر نشانگر QX174 می باشد)

اطلاعات چند شکلی با مقدار  $0/83$  برای آغازگر Xgwm372-2A و کمترین میزان با مقدار  $0/23$  برای آغازگر Xgwm371-5B و میانگین کل  $0/63$  به دست آمد (جدول ۲). با نتایجی که در مطالعات قبلی از شاخص چند شکلی و میزان اطلاعات چندشکلی جایگاه های ریزماهوره ها در گندم توسط رودر و همکاران (۲۰) با مقدار  $0/23$  تا  $0/79$  و میانگین  $0/71$ ، پلاشک و همکاران (۱۷)، از  $0/29$  تا  $0/79$ ، می و همکاران<sup>۳</sup> (۱۲)،  $0/21$  تا  $0/81$ ، پراساد و همکاران (۱۹)، با میانگین  $0/71$ ، آگراما و همکاران<sup>۴</sup> (۱)، از  $0/23$  تا  $0/81$  و با میانگین  $0/62$  گزارش شده بود، مشابهت داشت. در این تحقیق میانگین میزان اطلاعات چندشکلی برای موتیف های دی نوکلئوتیدی برابر با  $0/68$  و برای موتیف های تری نوکلئوتیدی برابر با  $0/66$  مشاهده گردید.

#### ضریب تشابه

ضریب تشابه ژنتیکی در بین ۲۱ ژنوتیپ مورد استفاده در تمام ارقام بر اساس دو ضریب تشابه محاسبه شد ( $14$  و  $10$ ) و بیش ترین میزان تشابه در روش جاگرد بین قدس و الوند ( $0/606$ ) و کمترین میزان تشابه ( $0/063$ ) بین بولانی و نیک نژاد و در روش نی و لی بیش ترین مربوط به قدس و الوند ( $0/755$ ) و کمترین میزان تشابه بین ژنوتیپ های بولانی و نیک نژاد ( $0/188$ ) مشاهده گردید.

UPGMA و با نرم افزار NTSYS-pc v. 2.02 مبتنی بر ضریب تشابه جاگرد انجام شد.

#### نتایج و بحث

##### چند شکلی در ریزماهوره ها

وجود چندشکلی در ۳۷ جفت آغازگر ریزماهوره در تمامی ارقام مورد بررسی قرار گرفت و در مجموع ۱۹۹ آلل تکثیر شد که در این حال، آغازگر ۵B - Xgwm371 با دو آلل کمترین تعداد و آغازگرهای Xgwm334-6A و Xgwm264-1B با ۱۰ آلل بیش ترین تعداد را داشتند. میانگین تعداد آلل در کل جایگاه ها برابر  $5/3$  بود (جدول ۲). با نتایجی که استاکل و همکاران<sup>۱</sup> (۲۲)، با میانگین تعداد آلل  $5/2$ ، ماکافری و همکاران (۱۳)، تعداد آلل را از دو تا ۱۲ و میانگین  $5/6$  و یوجایل و همکاران<sup>۲</sup> (۶)، میانگین تعداد آلل  $5/5$  گزارش داده بودند مشابهت داشت.

##### شاخص چندشکلی و میزان اطلاعات چند شکلی

شاخص چندشکلی و میزان اطلاعات چندشکلی برای هر جایگاه ریزماهوره در تمام ارقام مورد بررسی قرار گرفت و بیش ترین میزان شاخص چندشکلی با مقدار  $0/85$  مربوط به آغازگر 2A - Xgwm372 و کمترین میزان شاخص چندشکلی با مقدار  $0/27$  مربوط به آغازگر Xgwm371-5B و میانگین کل  $0/68$  مشاهده گردید. بیش ترین میزان

3- Ma et al.

4- Agrama et al.

1- Stachel et al.

2- Eujayl et al.

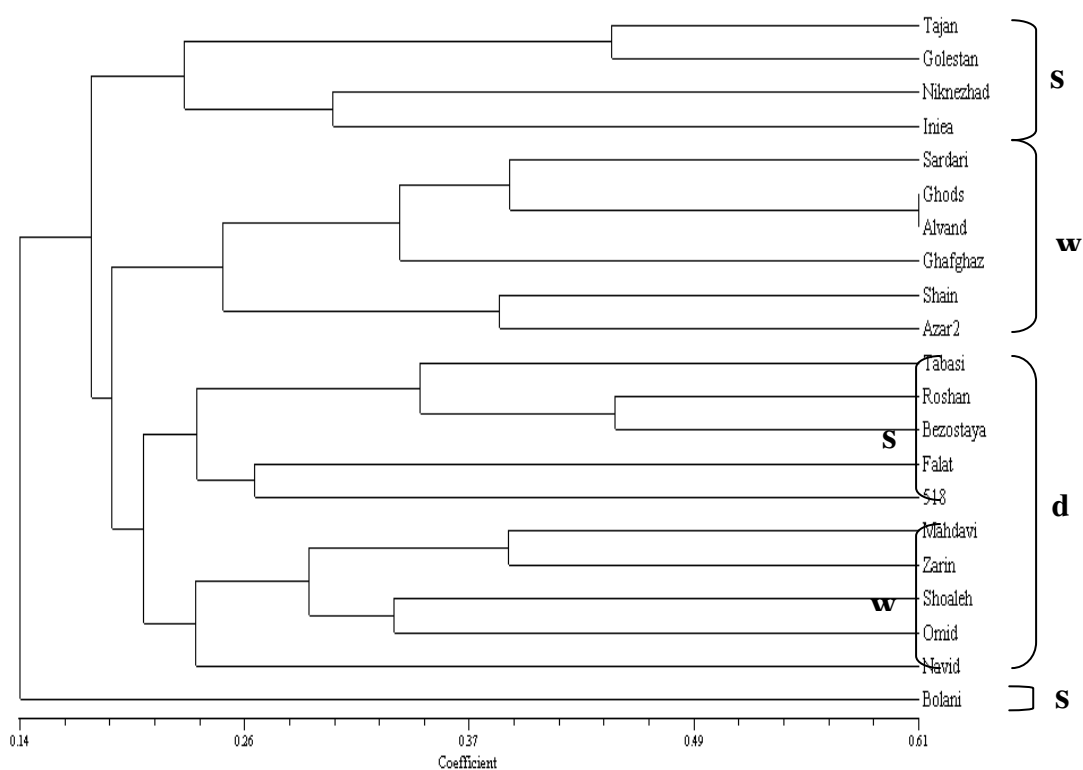
جدول ۲- نام، محل جایگاه، موتیف، تعداد آلل، شاخص چندشکلی و میزان اطلاعات چندشکلی

نام جایگاه	محل جایگاه	موتیف	تعداد آلل	DI	PIC
Xgwm۱۵۳	۱BL	(CA)18	۶	۰/۷۲	۰/۶۸
Xgwm۲۷۴	۷BL	(GT)27	۳	۰/۶۴	۰/۵۶
Xgwm۳۴۰	۳BL	(GA)26	۵	۰/۶۲	۰/۵۷
Xgwm۳۳۴	۶AS	(GA)19	۱۰	۰/۷۹	۰/۷۶
Xgwm۱۱۱	۷DS	(CT)32(GT)17	۸	۰/۷۷	۰/۷۴
Xgwm۶۴۲	۱DL	(GT)14	۴	۰/۵۸	۰/۵۱
Xgwm۱۴۸	۲BS	(CA)22	۴	۰/۶۳	۰/۵۷
Xgwm۱۴۹	۴BL	(GA)23	۷	۰/۷۸	۰/۷۴
Xgwm۳۷۲	۲AS	(GA)>51	۸	۰/۸۵	۰/۸۳
Xgwm۵۳۹	۲DL	(GA)27	۴	۰/۶۳	۰/۵۶
Xgwm۵۴۰	۵BS	(CT)3(CC)(CT)16	۵	۰/۶	۰/۵۵
Xgwm۱۵۶	۵AL	(GT)14	۴	۰/۷۱	۰/۶۶
Xgwm۱۹۰	۵DS	(CT)22	۵	۰/۶۶	۰/۶
Xgwm۳۸۳	۳DL	(GT)27	۴	۰/۵۳	۰/۴۹
Xgwm۱۳۳	۶BS	(CT)39	۶	۰/۶۶	۰/۶۲
Xgwm۳۲۵	۶DS	(CT)16	۵	۰/۷۲	۰/۶۸
Xgwm۳۵۷	۱AL	(GA)18	۶	۰/۷۶	۰/۷۳
Xgwm۶۰۸	۴DC	(GA)16	۵	۰/۷	۰/۶۵
Xgwm۱۶۰	۴AL	(GA)21	۵	۰/۷۶	۰/۷۳
Xgwm۳۶۹	۳AS	(CT)11(T)2(CT)21	۸	۰/۷۹	۰/۷۶
Xgwm۱۲۰	۲BL	(CT)11(CA)18	۵	۰/۶	۰/۵۶
Xgwm۲۶۴	۱BS	(CA)9(A)(CA)24	۱۰	۰/۸۱	۰/۷۹
Xgwm۴۹۵	۴BL	(GA)20	۷	۰/۸۱	۰/۷۸
Xgwm۴۴	۷DC	(GA)28	۵	۰/۷۳	۰/۶۸
Xgwm۴۶۹	7DS	(CT)19(CA)10	۵	۰/۷۷	۰/۷۳
Xgwm۵۵	۶D	(TC)3((T)3(CT)17	۴	۰/۶۴	۰/۵۹
Xgwm۱۳۰	۷AS	(GT)22	۳	۰/۵	۰/۴۷
Xgwm۴۳۷	۷DL	(CT)28	۵	۰/۷۴	۰/۷
Xgwm۱۳۲	۶BS	(GA)24(GAA)26	۸	۰/۸۳	۰/۸۱
Xgwm۳۸۹	۳BS	(CT)14(GA)16	۶	۰/۶۸	۰/۶۴
Xgwm۶۱۳	۶BS	(CT)23	۳	۰/۵۳	۰/۴۶
Xgwm۲۷۱	۵DL	(CT)4(GA)10	۵	۰/۷۴	۰/۷
Xgwm۳۷۱	۵BL	(CT)10(GA)32	۲	۰/۲۷	۰/۲۳
Xgwm۴۹۳	۳BS	(CA)43	۷	۰/۷۶	۰/۷۴
Xgwm۳۵۹	۲AC	(CT)20(CTT)13	۳	۰/۴۹	۰/۴۳
Xgwm۴۴۳	۵BS	(CA)20(GA)32	۵	۰/۶۹	۰/۶۴
Xgwm۵۰۸	۶BS	(GT)19	۴	۰/۶۱	۰/۵۶

## تجزیه خوشه ای

ژنوتیپ ها با استفاده از ضریب تشابه جاکارد با ترسیم دندروگرام و بر اساس روش تجزیه خوشه ای UPGMA با نرم افزار NTSYS-pc v. 2.02 گروه بندی شدند و ۲۱ ژنوتیپ گندم در ۴ گروه قرار گرفتند؛ ضمناً در این تحقیق گروه بندی با تعداد مختلف آغازگر مورد بررسی قرار گرفت و نهایتاً مشاهده شد که فقط تعداد ۳۰ جفت آغازگر برای

انجام گروه بندی بین ارقام کافی است؛ زیرا هر چه جفت آغازگرهای بیشتری اضافه می شد، نتایج ثابت می گردید و دیگر نیاز به استفاده از جفت آغازگر بیشتر نبود که نشان دهنده قدرت بالای ریزماهواره ها در گروه بندی ارقام است (شکل ۲).



شکل ۲- گروه بندی ارقام بر اساس بهاره و پاییزه بودن با توجه به ماتریس تشابه جاکارد و روش UPGMA (S-بهاره، W-پاییزه و d-مختلف)

گرفت و نشان داد که مقادیر ویژه در روش جاکارد برای سه مؤلفه اول تنها ۲۵ درصد کل واریانس، ولی در روش نی و لی ۳۱ درصد کل واریانس را توجیه کرد. با علم به این که فنوتیپ اثر و فرآورده نهایی ژن است که در محیط خاصی ظاهر می شود و با توجه به خاصیت پلیوتروپی ژن ها، انتظار می رود فقط متغیرهای کمی (فنوتیپ) پیوستگی داشته باشند و اکثر متغیرها توسط مولفه های کمتری توجیه شوند؛ اما بخش های مختلف دی ان ا همبستگی معنی داری با هم ندارد و پیوستگی بین ژن ها فقط زمانی معنی خواهد داشت که در سطح فنوتیپ (متغیرهای کمی) نمایان شوند؛ در نتیجه تجزیه به مولفه های اصلی بر روی داده های کیفی برگرفته از آنالیز دی ان ا نبایستی منجر به کاهش متغیرها به ۲ یا ۳ مولفه شود؛ زیرا هر کدام از متغیرها اطلاعات متفاوتی را ارائه می دهند. در این تحقیق مقدار پایین مولفه های اصلی موید مطلب بالا بوده، کاهش اطلاعات به ۲ یا ۳ مؤلفه اصلی نتوانست تمام ارقام را مطابق با روش تجزیه خوشه ای از هم جدا کند.

در مجموع، اطلاعات این بررسی نشان داد که فناوری ریزماهواره می تواند به عنوان یک ابزار موثر در مطالعه تنوع ژنتیکی، مطالعه فیلوژنی و تکامل، تهیه نقشه نشانگری، مطالعه اکولوژیکی و تکامل جمعیت ها، شناسایی ژنوتیپ ها، تعیین میزان هتروزیگوسیتی و پیش بینی هتروزیس مورد استفاده قرار می گیرد.

گروه ۱: شامل ارقام تجن، گلستان، نیک نژاد و اینیاء بود که مبداء همه آنها خارج از ایران می باشد و در کل بهار هستند.

گروه ۲: شامل ارقام سرداری، قدس، الوند، قفقاز، شاین و آذر ۲ بود که مبداء همه آنها ایران و پاییزه هستند.

گروه ۳: شامل ارقام طبسی، روشن، بزوستایا، فلات، ۵۱۸، مهدوی، زرین، شعله، امید و نوید بود که از لحاظ مبداء و بهار پاییزه بودن، مختلف هستند؛ ولی در کل به دو زیر گروه تقسیم بندی می گردد که در زیر گروه اول، اکثر ارقام بهار و در زیر گروه دوم، اکثر ارقام پاییزه قرار دارند.

گروه ۴: در این گروه فقط رقم بولانی قرار می گیرد و بهار می باشد.

تجزیه به مولفه های اصلی همواره نمی تواند تعداد زیادی از متغیرهای آغازین را به تعداد کمتری از متغیرهای تبدیل شده کاهش دهد. در واقع اگر متغیرهای اولیه همبستگی نداشته باشند، این تجزیه مطلقا بی ارزش خواهد بود و بهترین نتایج زمانی عاید می شود که متغیرهای اولیه همبستگی بسیار شدید مثبت و منفی داشته باشند. اگر این حالت مطلوب رخ دهد، مولفه های اصلی مهم می توانند به عنوان معیارهایی جهت نشان دادن جنبه های متفاوتی از داده ها جالب توجه باشند. با توجه به شباهت کروموزومی گندم، خودگشنی (که منجر به هموزیگوسی می شود) و همباز بودن ریزماهواره ها تجزیه به مولفه های اصلی بر روی داده ها صورت

## منابع

1. Agrama, H.A., and Tuinstra, M.R. 2003. Phylogenetic diversity and relationship among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. African Biotech, 2(10): 334-340.

2. Bohn, M., Friedrich-Utz, H., and Melchinger, A.E. 1999. Genetic Similarities among winter wheat cultivars determined on the Basis of RFLPs, AFLPs, and SSRs and Their Use for Predicting Progeny Variance. *Crop Science*, 39:228–237.
3. Botstein. D., White, R.L., Skolnick, M., and Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am J Hum Genet*, 32: 314-331.
4. Bryan. G.J., Collins, A.J., Stephanson, P., Orry, A., Smith, J.B., and Gale, M.D. 1997. Isolation and characterisation of microsatellite from hexaploid bread wheat. *Theor. Appl. Genet*, 94: 557-563.
5. Dellaporta, S.L., Wood, J., and Hicks, J.B. 1993. A plant DNA miniprep. *Version II, Plant Molecular Biology Rep.* 1, 19.
6. Eujayl, I., Sorrells, M.E., Baum, M., Wolters, P., and Powel, W. 2002. Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. *Theor. Appl. Genet*, 104:399–407.
7. Gupta, P.K., Balyan, H.S., Edwards, K.J., Isaac, P., Korzun, V., Roder, M.S., Gautier, M.F., Schlatter, A.R., Dubcovsky, J., and Delapena, R.C. 2002. Genetic mapping of 66 new microsatellite(ssr) loci in bread wheat. *Theor. Appl. Genet*, 105: 413-422.
8. Gupta, P.K., Mir, R.R., and Kumar, J. 2008. Wheat Genomics: Present status and Future prospects(Review Article). *International journal of Genomics*, Article ID 896451, 36page.
9. Halton, T.A. 2001. Plant genotyping by analysis of microsatellite In R. J. Henry (Ed). *Plant genotyping, the DNA fingerprinting of plant.* pp: 15-29, CABI Publication, New York, USA.
10. Jaccard, P. 1912. The distribution of flora in the alpine zone. *The New Phytologist*, 11: 37-50.
11. Kobiljski, B., Quarrie, S., Dencici, S., Zirby, J., and Iveges, M. 2002. Genetic diversity of the novi sad wheat core collection revealed by microsatellite. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 7: 685 – 694.
12. Ma, Z.Q., Roder, M., and Sorrells, M.E. 1996. Frequencies and sequence characteristics of di-, tri-, and tetra-nucleotide microsatellites in wheat. *Genome*, 39:123-130.
13. Maccaferri, M., Sanguineti, M.C., Donini, P., and Tuberosa, R. 2003. microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. *Theor. Appl. Genet*, 107:783-797.
14. Nei, M., and Li, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Science USA*, 76: 5269-5273



15. Pasqualone, A., Lotti, C., and Blanco, A. 1999. Identification of durum wheat cultivars and monovarietal semolinas by analysis of DNA microsatellites. *Eur Food Res Technol*, 210:144–147
16. Pestsov, E., korzun, V., Goncharov, N.P., Hammer, K., Ganal, M.W., and Roder, M.S. 2000. Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. *Theor Appl Genet* 101: 100-106
17. Plaschke, J., Ganal, M.W., and Roder, M.S. 1995. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet*, 91:1001-1007.
18. Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., and Rafalsky, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225–238.
19. Prasad, M., Varsheny, R.K., Roy, J.K., Balyan, H.S., and Gupta, P.K. 2000. The use of microsatellite for detection DNA polymorphism, genotype identification and genetic divesity in wheat. *Theor. Appl. Genet*, 100: 584-592.
20. Roder, M.S., Plaschke, J., Konig, S.U., Borner, A., Sorrells, M.E., Tanksley, S.D., and Ganal, M.W. 1995. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecoular Genetic Genet*, 246:327-333
21. Roder, M.S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M.H., Leroy, P., and Ganal, M. W. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149: 2007-2023.
22. Stachel, M., Lelley, T., Grausgruber, H., and Vollmann, J. 2000. Application of microsatellites in wheat (*Triticum aestivum* L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use. *Theor. Appl. Genet*, 100: 242–248.
23. [www.promega.com/](http://www.promega.com/) Silver Sequence™ DNA Sequencing System Instructions .