ژنتیک نوین
دوره پنجم، شماره ٤، زمستان ١٣٨٩
صفحه ٧٦-٦٩

بررسی تنوع ژنتیکی برخی ارقام متحمل و حساس به خشکی گندم نان بااستفاده از نشانگرهای بین ریزماهواره‌ای (ISSR)

مریم زر[1]، جعفر احمدی[2]، قاسمعلی گروسی[3]، امیرحسین بیکی[4]

۱،۲،۳و۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیاران گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه بین المللی امام خمینی

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: njahmadi910@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۹ - تاریخ پذیرش:)

چکیده

گندم نان (*Triticum aestivum*) با بیشترین سطح زیرکشت و میزان تولید در ایران همواره با تنش خشکی به‌عنوان یکی از عوامل مهم محیطی کاهش‌دهنده عملکرد مواجه است. بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم جهت کاهش آسیب‌پذیری ژنتیکی و استفاده از آن در طی برنامه‌های اصلاح نباتات از اهمیت بالایی برخوردار است. این تحقیق به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ٢٦ رقم گندم (١٥ رقم مقاوم و ١١ رقم حساس) از نشانگرهای ISSR استفاده گردید. از ٢١ آغازگر ISSR مورداستفاده، ١٠ آغازگر الگوی باندی قابل امتیازدهی چندشکل تولید کردند و جهت تکثیر قطعاتی از DNA ژنومی گندم استفاده شدند. در این مطالعه ١٣٣ مکان ژنی امتیازبندی شدند که از این تعداد ٩٢ مکان چندشکلی نشان دادند. میانگین محتوای چندشکلی اطلاعات (PIC) برای آغازگرها برابر ٠/٣٧ و بالاترین مقدار PIC مربوط به آغازگرهای K13 و UBC 840 (٠/٤) بود. براساس ضریب تشابه جاکارد بیشترین فاصله ژنتیکی بین ارقام ویناک (مقاوم) و مرودشت (حساس) و کمترین فاصله بین ارقام امید (مقاوم) و بک کراس روشن زمستانه (مقاوم) بود. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward، ارقام را به دو گروه اصلی تقسیم‌بندی نمود. نتایج این پژوهش نشان داد که نشانگرهای ISSR به طور موثری می‌توانند برای مطالعه تنوع ژنتیکی ارقام گندم استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی

گندم نان،
تنوع ژنتیکی،
ISSR،
PIC

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum*) از نظر اهمیت و میزان تولید، اولین غله دنیاست و به عنوان منبع اصلی تامین‌کننده کالری و پروتئین انسان در کشورهای مختلف جهان و به‌خصوص کشورهای درحال توسعه شناخته شده است. ارزش غذایی بالا، هضم آسان، تنوع و مرغوبیت فرآورده‌های آن، سهولت تبدیل و نگهداری و سایر خصوصیات، گندم را در میان سایر غلات متمایز کرده است (١).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.4.3.0]

امروزه با توجه به توسعه نشانگرهای DNA و قدرت تمایز، قطعیت و فراوانی آنها، به‌طور گسترده‌ای از این نشانگرها در کشاورزی استفاده می‌شود. یکی از این نشانگرها ISSR می‌باشد که می‌توان از آن به‌عنوان ابزاری مفید در نقشه‌یابی و انگشت-نگاری ژنتیکی استفاده کرد. این روش به DNA الگوی کمی نیاز داشته و به‌علت طول زیاد آغازگرها، دمای بالای اتصال، سرعت و سادگی فنی و رفتار مندلی ممکن است به‌سرعت ابزاری با ارزش برای تجزیه ژنوم گندم در آینده نزدیک محسوب شوند (۴). Pasqualone و همکاران (۲۰۰۰) کارآیی بالای نشانگرهای ISSR را برای شناسایی ارقام گندم ماکارونی گزارش نمودند (۱۳). Nagaoka و Ogihara (۱۹۹۷) نشان دادند که ISSR ها در گندم در مقایسه با نشانگرهای RAPD و RFLP اطلاعات مفیدتری را ارائه می‌دهند (۱۲). کارایی بالای نشانگرهای ISSR برای مکان‌یابی ژن‌های مفید در کشاورزی اولین بار توسط Akagi (۱۹۹۶) در برنج گزارش گردید (۲). Tsumura (۱۹۹۶) توارث مندلی نشانگرهای ISSR را در کاج و گیاه همیشه بهار گزارش کرد (۱۸). Ratnaparke (۱۹۹۸) یک نشانگر ISSR پیوسته با ژن مقاومت به پلاسیده شدن فوزاریومی در این گیاه معرفی کرد (۱۶). Ammiraju و همکاران (۲۰۰۱) با مطالعه نشانگر ISSR روی اندازه دانه گندم نشان دادند که ISSR ها برای شناسایی نشانگرهای مرتبط با ژن‌های بزرگ اثر و کوچک اثر کنترل‌کننده صفات مهم گندم مفید هستند (۴). استفاده از نشانگرهای ISSR بدلیل نیاز نداشتن به اطلاعات قبلی در مورد توالی هدف در مقایسه با نشانگر SSR آسان است (۱۸). Sofalian و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تنوع ژنتیکی نژادهای بومی گندم‌های شمال غرب ایران بااستفاده از نشانگر ISSR، سطح بالایی از چندشکلی را گزارش کردند. آنها همچنین اظهار داشتند که نشانگرهای ISSR کارامدترین ابزار برای تخمین تنوع ژنتیکی بین‌گونه‌ای در گندم است (۱۷). نشانگرهای ISSR جهت برآورد تنوع ژنتیکی در محصولات زراعی اصلی مانند ذرت (۹)، گندم (۱۲)، برنج (۵) و جو (۶، ۷) باموفقیت استفاده گردیده است. هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی برخی ارقام مقاوم و حساس به خشکی گندم با نشانگرهای ISSR بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی

برای انجام این تحقیق از بذور ۲۶ رقم گندم نان که از بخش غلات موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شده بود استفاده شد. جدول (۱) مشخصات ارقام مورد استفاده را نشان می‌دهد.

استخراج DNA ژنومی

بذور ارقام مورد استفاده در گلدان‌های مجزا در محیط گلخانه کشت گردیدند و نمونه‌های برگی در مرحله ۵- ۶ برگی در اندازه‌های ۰/۲ گرم تقسیم شده و بعد از تثبیت در ازت مایع (دماي ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) براي استفاده بلندمدت در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. براي استخراج DNA از بافت برگی از روش تغییریافته پیرتیلا و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد. بافر استخراج DNA شامل ۱۰۰ میلی‌مولار تریس (pH=۸)، ۵۰ میلی‌مولار EDTA (pH=۸)، ۲ مولار کلریدسدیم، ۲درصد (w/v) هگزا دستیل تری متیل آمونیوم بروماید (CTAB)، ۲ درصد (w/v) پلی‌ونیل پیرولیدین (PVP)، ۲درصد (v/v) بتا-مرکاپتواتانول بود. کمیت و کیفیت DNA توسط دستگاه اسپکتروفتومتر U.V ساخت کمپانی لبومد انگلستان و ژل آگاروز ۰/۸ درصد تعیین گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

در این تحقیق از ۲۱ آغازگر ISSR که براساس مطالعات قبلی (۳، ۱۲، ۱۵) انتخاب شده بودند استفاده گردید. ۱۱ آغازگر الگوی باندی قابل امتیازدهی تولید کردند که از بین آنها ۱۰ آغازگر چندشکل بوده و برای بررسی تنوع ارقام مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۲). تکثیر قطعات DNA با واکنش پی‌سی‌آر در حجم ۲۵ میکرولیتر بااستفاده از Master kit (شرکت سینا ژن) انجام گرفت. در ترموسایکلر تکنه مدل گرادیان تی‌سی ۵۱۲ (ساخت آلمان) انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با واسرشته‌سازی DNA ژنومی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه آغاز و با ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به-مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای مناسب اتصال برای هر آغازگر (۴۷ تا ۵۶ درجه سانتی‌گراد) به مدت یک دقیقه، توسعه

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.4.3.0]

رشته جدید در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ دقیقه و با توسعه نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه دنبال شد.

الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد در بافر TBE (۹۰ میلی‌مولار تریس، ۹۰ میلی‌مولار اسیدبوریک و دو میلی‌مولار EDTA) به مدت ۳ ساعت در ولتاژ ثابت ۸۵ ولت انجام گرفت. پس از رنگ‌آمیزی ژل‌ها با محلول اتیدیوم بروماید، عکس‌برداری زیر نور ماوراءبنفش با دستگاه ترانس‌ایلومیناتور ساخت شرکت U.V.P آمریکا انجام شد. باندهای توسعه یافته به صورت حضور (۱) و عدم حضور باند (صفر) امتیازدهی گردیدند. به‌منظور برآورد جرم ملکولی قطعات DNA تکثیر شده از DNA Ladder با دامنه وزن ملکولی ۲۵۰ الی ۱۰۰۰۰ جفت باز استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای برای گروه‌بندی ارقام بااستفاده از روش Ward مبتنی بر ضرایب تشابه جاکارد در نرم‌افزار NTYSYS spc 2.02 انجام گرفت. برای اطلاع از میزان ارتباط بین دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای و ماتریس تشابه، ضریب همبستگی کوفنتیک با نرم‌افزار مذکور محاسبه شد. محتوای اطلاعات چند شکل Polymorphic Information Content (PIC) و نیز شاخص نشانگری Marker Index (MI) برای آغازگرها محاسبه و مورد مقایسه قرار گرفتند. معیار PIC برای هر نشانگر از رابطه $1- p_i^2 - q_i^2$ بدست آمد که در آن p_i فراوانی آلل یک (آلل تولید کننده باند) و q_i فراوانی آلل صفر بود. شاخص نشانگر نیز از رابطه MI = PIC×EMR بدست آمد. نسبت چندگانه موثر Effective Multiplex Ratio (EMR) از نسبت نشانگرهای چندشکل به کل نشانگرها محاسبه گردید (۱۵).

جدول ۱- مشخصات ارقام استفاده شده در تحقیق

نام رقم		وضعیت تحمل به تنش	نام رقم		وضعیت تحمل به تنش
روشن	R	مقاوم	مرودشت	S	حساس
امید	R	مقاوم	مهدوی	S	حساس
پیشتاز	R	مقاوم	آزادی	S	حساس
چمران	R	مقاوم	قدس	S	حساس
زاگرس	R	مقاوم	شهریار	S	حساس
کویر	R	مقاوم	توس	S	حساس
بک کراس روشن(بهاره)	R	مقاوم	الموت	S	حساس
بک کراس روشن(زمستانه)	R	مقاوم	شیراز	S	حساس
الوند	R	مقاوم	نوید	S	حساس
نیک نژاد	R	مقاوم	بزوستایا	S	حساس
سپاهان	R	مقاوم	گاسپارد	S	حساس
سرداری	R	مقاوم			
سبلان	R	مقاوم			
کراس شاهی	R	مقاوم			
ویناک	R	مقاوم			

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.4.3.0]

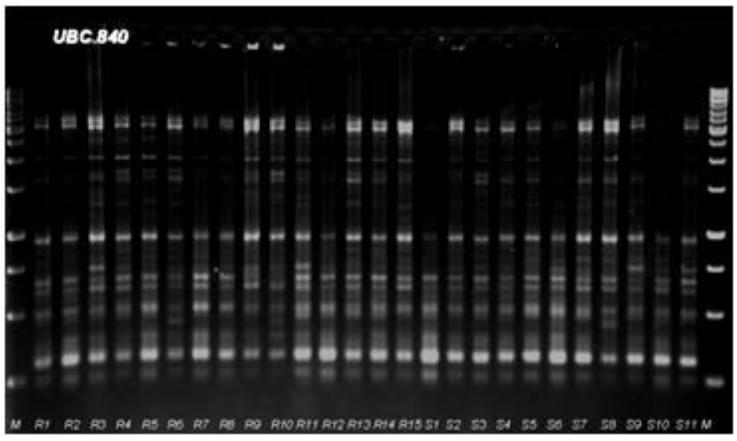
جدول ۲- توالی نوکلوتیدی و دمای اتصال آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

آغازگر	توالی آغازگر (′3-′5)	دمای اتصال (سانتی‌گراد)
K 13	$(AG)_8YT$	۵۴
K 16	$(CA)_8RC$	۵۴
ISSR 17899 A	$(CA)_6AG$	۴۴
ISSR 17899 B	$(CA)_6GG$	۴۴
UBC 818	$G(GGGGT)_3$	۵۵
UBC 834	$TT(AG)_8$	۵۵
UBC 840	$TT(GA)_8$	۵۳
UBC 856	$YA(AC)_8$	۵۶
UBC 872	$(GATA)_2(GACA)_2$	۴۷
K10	$(AC)_8YG$	۵۴

نتایج و بحث

از ۲۱ آغازگر ISSR مورد استفاده در این تحقیق، ۱۱ آغازگر الگوی باندی واضح و تکرارپذیر تولید نمودند که از بین آنها ۱۰ آغازگر چندشکلی نشان دادند (شکل ۱) و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. میانگین درصد چندشکلی ایجاد شده توسط ۱۰ آغازگر ۶۲/۸ درصد بود. بالاترین درصد چندشکلی مربوط به آغازگر K16 بود. طبق نتایج Akkaya (۱۹۹۲) آغازگرهای دارای موتیف GA، سطح پایین‌تری از چندشکلی را در مقایسه با سایر آغازگرها نشان می‌دهند، ولی در این مطالعه آغازگر UBC 840 با موتیف GA، چندشکلی بالائی نشان داد (۳). در مقایسه با نتایج Nagaoka و Ogihara (۱۹۹۷) که چندشکلی تولید شده از آغازگرهای با موتیف ۴ نوکلئوتیدی را بالاتر از آغازگرهای با موتیف دو نوکلوتیدی گزارش کرده‌اند، نتایج این آزمایش نشان داد که برخی از آغازگرهای با موتیف دونوکلئوتیدی چندشکلی بالاتری نسبت به آغازگرهای با موتیف چهار نوکلئوتیدی دارند (۱۲). به طور کلی متوسط تعداد باند در آغازگرها معادل ۲۷۲ و متوسط آن در ارقام ۹ بود. از ۱۳۳ مکان تکثیر شده توسط ۱۰ آغازگر، ۹۲ مکان ژنی (۶۶/۲ درصد) چندشکل بود (جدول۳).

ضریب همبستگی کوفنتیک دندروگرام‌های حاصل از ضریب تشابه جاکارد (r =۰/۸۶) بزرگتر از ضریب همبستگی کوفنتیک دندروگرام‌های حاصل از ضرایب تشابه دایس و تطابق ساده بود، لذا ادامه تجزیه خوشه‌ای بر اساس نتایج حاصل از ضریب تشابه جاکارد انجام گرفت. با توجه به دندروگرام حاصل (شکل۲) بیشتر ارقام متعلق به دو گروه اصلی بودند. بقیه ارقام به صورت منفرد در گروه‌های جداگانه قرار گرفتند.

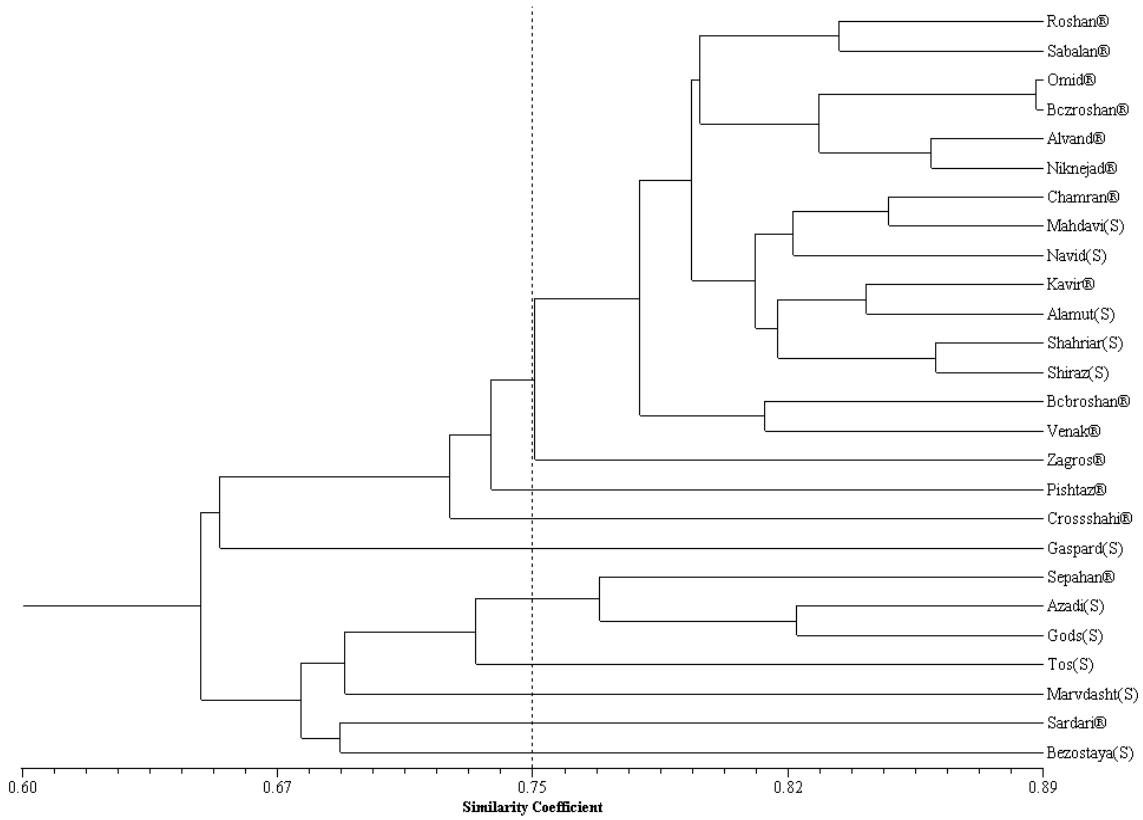


شکل ۱- الگوی باندی DNA های تکثیر شده از ۲۶ رقم گندم توسط آغازگر UBC840

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.4.3.0]

جدول۳- درصد چندشکلی، تعداد مکان‌های چندشکل، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و شاخص نشانگری (MI) در مطالعه تنوع ۲۶ رقم گندم نان

کد آغازگر	تعداد مکان‌های تکثیر شده	تعداد باندهای تکثیر شده	تعداد مکان‌های چند شکل	درصد چند شکلی	PIC	MI
K 13	۱۹	۳۷۷	۱۴	۰/۷۴	۰/۴۰	۴/۳۴
K 16	۱۴	۲۷۲	۱۳	۰/۹۳	۰/۳۴	۳/۲۸
ISSR17899A	۱۵	۳۲۳	۸	۰/۵۳	۰/۳۶	۲/۳۷
ISSR 1789 B	۱۱	۲۱۳	۹	۰/۸۲	۰/۳۷	۲/۴۶
UBC 818	۸	۱۳۵	۶	۰/۷۵	۰/۴۰	۱/۵۱
UBC 834	۱۱	۲۴۰	۶	۰/۵۵	۰/۳۳	۱/۶۶
UBC 840	۱۸	۳۵۶	۱۳	۰/۷۲	۰/۴۰	۳/۹۹
UBC 856	۱۴	۳۰۴	۸	۰/۵۷	۰/۲۵	۱/۶۴
UBC 872	۱۱	۲۴۴	۷	۰/۶۴	۰/۳۲	۱/۸۹
K 10	۱۲	۲۷۳	۸	۰/۶۷	۰/۲۵	۱/۷۵



شکل ۲- دندروگرام ۲۶ رقم گندم با استفاده از ضریب تشابه جاکارد بر اساس روش ward

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.4.3.0]

گروه اصلی اول به چهار زیر گروه تقسیم گردید. در زیر گروه اول به‌ترتیب ارقام روشن، سبلان، امید، بک کراس روشن (زمستانه)، الوند و نیک نژاد قرار گرفتند، تمام ارقام قرار گرفته در این گروه متحمل به خشکی بودند. در زیر گروه دوم به‌ترتیب ارقام چمران، مهدوی، نوید، کویر، الموت، شهریار و شیراز قرار گرفتند که بیشتر ارقام متعلق به این گروه از نوع حساس به خشکی بودند. زیر گروه سوم شامل دو رقم مقاوم بک کراس روشن بهاره و ویناک بود و رقم مقاوم زاگرس به‌صورت منفرد در زیرگروه چهارم قرار گرفته است. گروه اصلی دوم شامل دو زیر گروه که ارقام حساس آزادی و قدس در زیرگروه اول و رقم مقاوم سپاهان در زیر گروه دوم قرار گرفت. فاصله ژنتیکی ۲۶ رقم مورد بررسی در این آزمایش از طریق ضریب تشابه جاکارد اندازه‌گیری شد. بیشترین فاصله بین ارقام ویناک (مقاوم) و مرودشت (حساس) با میزان تشابه ۰/۶ و کمترین فاصله ژنتیکی بین ارقام امید (مقاوم) و بک کراس روشن زمستانه (مقاوم) با میزان تشابه ۰/۸۹ بود. میزان تشابه بین ارقام مورد بررسی از ۰/۶ الی ۰/۸۹ متغیر بود.

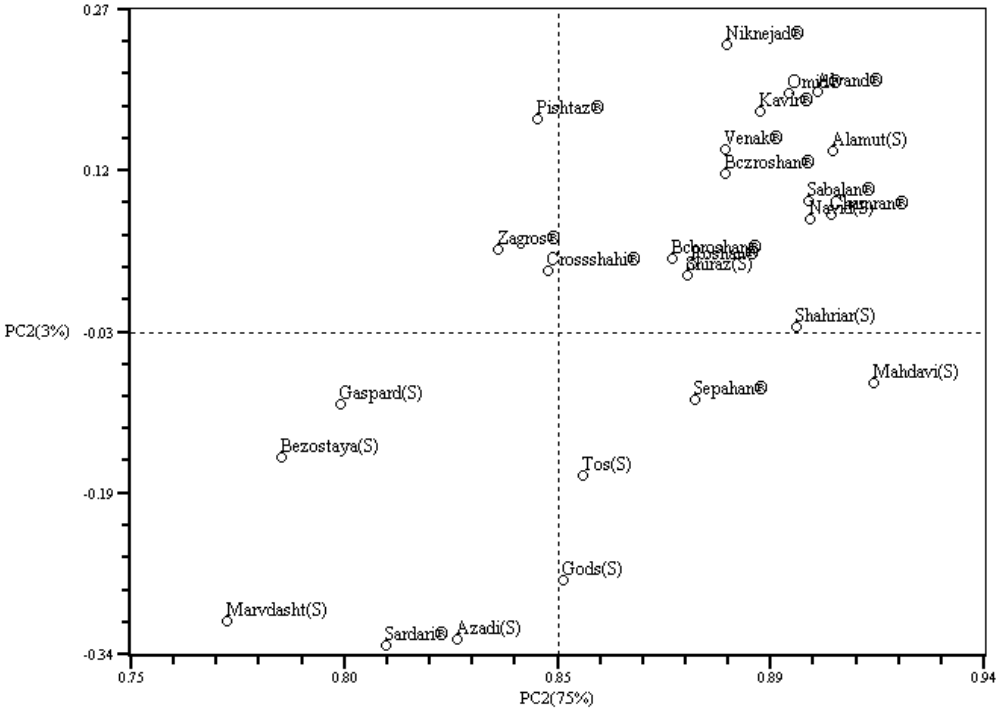
محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) با استفاده از فراوانی آللی برای هر آغازگر بطورجداگانه محاسبه گردید (جدول ۳). بالاترین مقدار PIC مربوط به آغازگر K13 و UBC 840 (۰/۴) بود. آغازگرهای مورد استفاده در این آزمایش از PIC بالائی برخوردار بودند که نشان‌دهنده انتخاب صحیح و کارائی بالای آغازگرهای مورد استفاده در این آزمایش می‌باشد. لذا می‌توان از این آغازگرها به‌خوبی برای بررسی ژرم‌پلاسم‌های گندم بهره گرفت. میانگین PIC برای آغازگرهای انتخاب شده در این آزمایش برابر ۰/۳۷ است درحالی که در مطالعات Hou و همکاران (۲۰۰۵ و ۲۰۰۶) برای بررسی تنوع ژنتیکی ارقام جو با استفاده از نشانگرهای ISSR، میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۶۴ و ۰/۴۲ گزارش شد (۷، ۸). طبق بررسی‌های Ma و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی تنوع ژنتیکی گندم نان با استفاده از نشانگرهای ISSR محتوای اطلاعات چندشکل را بین ۰/۹۴-۰/۶۰ با میانگین ۰/۷۹ گزارش نمودند (۱۰). شاخص نشانگری (MI) آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه بین ۱/۵ تا ۴/۳ متغیر بود (جدول۳) آغازگرهای K13 (MI=۴/۳)، UBC 840 (MI=۳/۹) و K16 (MI=۳/۳) شاخص نشانگری بالاتری را نسبت به سایر آغازگرها نشان دادند. شاخص MI یک معیار کارائی نشانگر در تخمین چندشکلی می‌باشد. به‌طورکلی MI می‌تواند بعنوان یک معیار کلی برای پیشگوئی کارائی نشانگر در یک ژرم پلاسم استفاده گردد (۱۵).

تجزیه به مختصات اصلی براساس ماتریس تشابه جاکارد و بااستفاده از نرم‌افزار NTYSYS spc 2.02 انجام گرفت. ۱۰ مولفه اول ۹۰ درصد واریانس داده‌ها را توجیه کردند. با توجه به اینکه دو مولفه اول نزدیک به ۷۸ در صد واراینس اولیه در مجموعه مورد مطالعه را توجیه می‌کرد لذا نمودار دو بعدی افراد مورد مطالعه براساس این دو مولفه نیز رسم گردید (۱۱). همان‌طور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود ارقام حساس مرودشت، آزادی، بزوستایا، گاسپارد، قدس و توس جدا از سایر ارقام در ربع اول نمودار قرار گرفته‌اند. به‌همین ترتیب اکثریت ارقام مقاوم در ربع سوم نمودار تجمع یافته‌اند. ارقام مقاوم و حساسی که بطور غیرصحیح در نواحی اول و سوم قرار گرفته‌اند را می‌توان با سایر عوامل دخیل در گروه‌بندی به غیر از صفات مقاومت و حساسیت آن ارقام توجیه نمود. در نتیجه‌گیری نهایی از این تحقیق مشخص شد که نشانگرهای مورداستفاده در این آزمایش به طور قابل توجهی از طریق گروه‌بندی با هر دو روش تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی، ارقام مقاوم و حساس را تا اندازه‌ای از همدیگر تشخیص دادند. البته این تفکیک می‌تواند به عواملی غیر از مقاوم و حساس بودن ارقام نیز مرتبط باشد. بنابراین بهترین توصیه این است که از این آغازگرها که چندشکلی قابل قبولی را در این مطالعه نشان دادند در مطالعات آینده در گندم استفاده شود و همچنین در تهیه جمعیت‌های نقشه یابی علاوه بر درنظر گرفتن مقاوم و حساس بودن، فاصله ژنتیکی بدست آمده بر اساس این مطالعه نیز لحاظ شود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.4.3.0]

شکل ۳- نمودار دوبعدی حاصل از تجزیه مختصات اصلی مبتنی بر ماتریس تشابه جاکارد



منابع

۱. عبدمیشانی، س.، شاه نجات بوشهری، ع. ۱۳۷۶. اصلاح نباتات تکمیلی، انتشارات دانشگاه تهران.

2. Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki, A. Nakamura and T. Fujimura. 1996. A co-dominant DNA marker closely linked to the rice nuclear restorer gene, Rf-1, identified with inter-SSR fingerprinting. Genome. 39: 1205–1209.

3. Akkaya, M. S., A. A. Bhagwat and P. B. Cregan. 1992. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. Genetics. 132: 1131–1139.

4. Ammiraju, J. S. S., B. B. Dholakia, D. K. Santra, H. Singh, M.D. Lagu, S. A. Tamhankar, H. S. Dhaliwal, V. S. Rao, V. S. Gupta and P. K. Ranjekar. 2001. Identification of inter simple sequence repeat (ISSR) markers associated with seed size in wheat. Theoretical Applied Genetics. 102: 726-732.

5. Blair, M. W., O. Panaud and S. R. Mc Couch. 1999. Inter- simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of micro-satellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical Applied Genetics. 98: 780–792.

6. Brantestam, A. K., R .V. Bothmer, C. Dayteg, I. Rashal, S. Tuvesson and J. Weibull. 2004. Inter-simple sequence repeat analysis of genetic diversity and relationship in cultivated barley of Nordic and Baltic origin. Heredity. 141: 186–192.

7. Hou, Y. C., Z. H. Yan, Y. M. Wei and Y. L. Zheng. 2005. Genetic diversity in barley from west China based on RAPD and ISSR analysis. Barley Genetic Newsletter. 35: 9–12.

8. Hou, Y. C., Yan, Z. H., Lan, X. J., Wei, Y. M. and Zheng, Y. L. 2006. Genetic diversity among barley germplasm with known origins based on the RAMP and ISSR markers. Scientia Agricultura Sinica.

9. Kantety, R. V., X. P. Zeng, J. L. Bennetzen and B. E. Zehr. 1995. Assesment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter simple sequence repeat (ISSR) amplification. Molecular Breeding. 1: 365–373.

10. Ma ,Y. M., Li ,S. S., Fan, Y. D., Sun, H. Y., Li, Y. X. and Li, R. J. 2006.Genetic diversity of ISSR loci for wheat cultivars of Huang-Huai winter wheat region. Journal of Plant Genetic Resources. 15: 334-340.

11. Mohamadi, S. A and M. Prassana. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants: salient statistical tolls and considerations. Crop of Science. 43: 1235- 1248.

12. Nagaoka, T. and Y. Ogihara. 1997. Applicability of inter-simple sequence repeat markers in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theoretical Applied Genetics. 94: 597–602.

13. Pasqualone, A. C., A. Lotti. 2000. Use of ISSR markers for cultivar identification in durum wheat. In: Royo C, Nachit MM, Di Fonzo N, Araus JL (eds) Proc. Durum wheat improvement in the Mediterranean region:new challenges. Zaragoza (Spain). 40:157–161.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.4.3.0]

14. Pirttila, A. M., M. Hirsikorpi, T. Kamarainen, L. Jaakola and A. Hohtola. 2001. DNA isolation method for medicinal and aromatic plants. Plant Molecular Biology Reporter. 19: 273-278.

15. Powell, W., Morgante, M., Andre, C. Hanafey, M. Vogel, J. Tingey, S. and Rafalski, A (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular and Breeding. 2: 225–238.

16. Ratnaparke, M. B., D. K. Santra, A. Tullu and F. J. Muehlbeur. 1998. Inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms and linkage with a fusarium wilt resistance gene in chickpea. Theoretical Applied Genetics. 96:348–353.

17. Sofalian, O., N. Chaparzadeh, A. Javanmard and M.S. Hejazi. 2008. Study the genetic diversity of wheat landraces from northwest of Iran based on ISSR molecular markers. International Journal of Agriculture and Biology. 10: 465–468.

18. Tsumura, Y., K. Ohba and S. H. Strauss. 1996. Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*). Theoretical Applied Genetics. 92: 40-45.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.4.3.0]