

بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های جو: II. نشانگرهای ریزماهواره و صفات مورفولوژیک

Genetic Diversity in Barley Genotypes: II. Microsatellite Markers and Morphological Traits

شهاب حاج منصور^۱، محمدرضا بی‌همتا^۲، علیرضا نبی‌پور^۳، عبدالله محمدی^۴،
سیدمصطفی پیرسیدی^۵ و حمیدرضا نیکخواه^۳

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی،

واحد کرج

۲- استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج

۳- به ترتیب استادیار و مربی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

۴- استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

۵- مربی، موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۰/۱۰

چکیده

حاج منصور، ش.، بی‌همتا، م.، نبی‌پور، ع.، محمدی، ع.، پیرسیدی، س.، م. و نیکخواه، ح. ر. ۱۳۸۹ بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های جو: II. نشانگرهای ریزماهواره و صفات مورفولوژیک. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۶: ۱۷۱ - ۱۵۰.

گام اول در برنامه‌های به‌نژادی، تعیین تنوع ژنتیکی در مواد اصلاحی است. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های جو، ۶۴ ژنوتیپ از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج با استفاده از نشانگر ریزماهواره (SSR) مورد ارزیابی قرار گرفتند. تعداد ۱۲۸ آلل که بین ۱ تا ۱۷ آلل در هر آغازگر متغیر بودند از به کارگیری ۱۴ آغازگر چند شکل حاصل شد و در مجموع ۸۱ آلل چند شکل به دست آمد. میانگین تعداد آلل در کل لوکوس‌ها برابر ۹/۱۴ بود. میانگین تعداد آلل در گیاه در کل لوکوس‌ها میزان ۲ را نشان داد. ضریب چند شکلی (PIC) هر لوکوس بر اساس نمره‌دهی نوارها بین ۰/۴۹ تا ۰/۸۹ محاسبه شد. در بررسی همبستگی نوارهای SSR با صفات مورفولوژیک تعدادی نشانگر کاندیدا به دست آمد که در برنامه‌های اصلاحی می‌توانند مفید واقع شوند. نتایج حاصل نشان داد که نشانگر ریزماهواره قادر است چند شکلی بالایی را نمایان سازد و از این‌رو ابزار مفیدی برای انگشت‌نگاری ژنوتیپ‌ها، دسته‌بندی آن‌ها و گزینش نشانگری است.

واژه‌های کلیدی: جو، صفات مورفولوژیک، تنوع ژنتیکی، نشانگر ریزماهواره.

مقدمه

امروزه از نشانگرهای مولکولی DNA به عنوان ابزاری مفید برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسما و تعیین مکان ژن‌های مقاومت به بیماری و تنش‌های محیطی و هم چنین رابطه بین اجداد وحشی و رقم‌های اصلاح شده در گیاهان استفاده می‌شود. در این میان، نشانگرهای ریزماهواره به دلیل چندشکلی بالا (Condon *et al.*, 2008)، توارث پذیری، همباز بودن و فراوانی در گیاهان، نشانگرهای ایده‌آلی برای دامنه وسیعی از کاربردها از جمله تهیه نقشه ژنتیکی، گزینش به کمک نشانگر، مطالعات ژنتیک جمعیت و تکاملی، انگشت نگاری ژنتیکی، تجزیه و تحلیل شجره‌نامه‌ها و مشخص کردن میزان تغییرات تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسما هستند (Kolliker *et al.*, 2001). نشانگرهای ریزماهواره (SSR) عموماً سطوح بالاتری از چند شکلی را نشان می‌دهند و با توجه به فراوانی تعداد آلل در هر لوکوس حتی قادر به تمایز بین رگه‌های بسیار مشابه نیز هستند (Nachit *et al.*, 2001; Mohan *et al.*, 1997). در جو تاکنون دست کم ۵۶۸ نشانگر SSR تهیه شده که کارایی خود را در تعیین تنوع ژنتیکی، طبقه‌بندی ژرم پلاسماها و شناسایی ژن‌ها به خوبی نشان داده‌اند (Matus and Hayes, 2002)؛ (Ramsay *et al.*, 2000). نتایج تحقیقی که روی تنوع ژنتیکی ۱۰۶ نمونه جمع آوری شده از تبت و چین شامل سه گونه جو با استفاده از نشانگر ریزماهواره انجام شد نشان داد که تنوع ژنتیکی

بین گونه‌ای بیشتر از درون گونه‌ای است و هم چنین مبدا جوهای زراعی شده چین مشخص شد (Feng *et al.*, 2006). تعداد ۹۵۳ رقم جو از تمام قاره‌های جهان با ۴۸ نشانگر ریزماهواره به منظور بررسی تنوع ژنتیکی مورد مطالعه قرار گرفتند و ارقام اروپایی کاملاً از بقیه ارقام جدا شدند (Malysheva-otto *et al.*, 2006). برای بررسی تغییرات و روابط ژنتیکی ۱۲ رقم جو از مارکرهای RAPD و SSR استفاده شد و مارکر SSR تنوع بسیار بالایی را نسبت به مارکر RAPD نشان داد و ارقام به خوبی از یکدیگر جدا شدند (Karim *et al.*, 2009). در یک تحقیق تنوع ژنتیکی در ۵۳ رقم چک اسلوواکی با استفاده از صفات مورفولوژیک، زراعی، بیوشیمیایی و نشانگر RAMS مورد بررسی قرار گرفت که نتایج قابل توجه نبودند ولی استفاده از نشانگر SSR توانست چند شکلی را به خوبی نشان دهد (Kraic *et al.*, 2002).

بررسی تنوع آللی که با استفاده از ۷۰ نشانگر SSR در طی سال‌های ۱۹۸۵ تا ۱۹۹۸ انجام شد، نشان داد که میزان تنوع ژنتیکی به نحو چشمگیری کم شده است، به طوری که در روند برنامه‌های اصلاحی میزان تنوع آللی در هر لوکوس از ۵/۸۹ به ۲/۳۹ کاهش پیدا کرده است (Condon *et al.*, 2008).

با استفاده از نشانگر SSR، RFLP و TRAP (Target Region Amplified Polymorphism) ژن مقاومت به بیماری *Pyrenophora teres* (عامل برگ‌نقطه‌ای جو) ردیابی شده است

دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. میزان جذب نور در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه گیری و از نسبت OD260/OD280 برای بررسی کیفیت DNA استفاده شد. غلظت DNA مورد استفاده در PCR، ۵۰ نانوگرم بود.

برنامه PCR: روش PCR به کار گرفته شده در این تحقیق برنامه Touchdown بود. این برنامه دارای سه چرخه دمایی مختلف است. چرخه اول شامل سه دقیقه دمای 95°C (واسرشتگی)، چرخه دوم شامل ۳۰ ثانیه 95°C یک دقیقه 60°C (اتصال) و یک دقیقه 72°C (بسط) بود و سپس هر سیکل $0/5$ درجه پایین آمد تا به 55°C رسید (دمای دقیق با توجه به نقطه ذوب هر آغازگر تعیین شد به طوری که چهار درجه کمتر از نقطه ذوب آن آغازگر باشد)، چرخه سوم شامل ۲۵ سیکل بود که هر سیکل شامل ۳۰ ثانیه 95°C ، یک دقیقه 55°C و یک دقیقه 72°C بود و جهت تکمیل رشته های ناقص باقیمانده واکنش با یک مرحله بسط نهایی پنج دقیقه ای در 72°C خاتمه یافت.

غلظت مواد مورد استفاده در PCR:

۲/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR، ۰/۷۵ میکرولیتر بافر کلرید منیزیم ۵۰ میلی مولار، ۰/۵ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدها (۱۰ میلی مولار)، ۱ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای اختصاصی ($10\text{ pmol}/\mu\text{l}$)، ۱ میکرولیتر از DNA با غلظت ۵۰ نانوگرم، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq-DNA پلی مرز ($5\text{ unit}/\mu\text{l}$) و با آب مقطر استریل حجم نهایی به ۲۵ میکرولیتر

(Timothy and Dustin., 2007). در مطالعه ای با استفاده از نشانگر SSR امکان تشخیص ارقام مقاوم و حساس به ویروس موزائیک زرد جو و مکان کروموزومی ژن مقاومت در روی کروموزوم 3H مشخص شد. این روش برای بررسی رقم های جو مقاوم به سفیدک پودری نیز مورد استفاده قرار گرفته است (Tomas *et al.*, 2002). ژن ویروس کوتولوگی جو نیز با نشانگر SSR مکان یابی شده است (Dahleen *et al.*, 2005).

بیش از یک هزار صفت مورفولوژیک در جو شناسایی شده است که کمتر از نصف این صفات در نقشه لینکاژی جو مکان یابی شده اند. توسط نشانگر SSR، هشت صفت مورفولوژیک مکان یابی شدند (Lynn, 2006).

هدف از این تحقیق استفاده از نشانگر SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی و هم چنین بررسی وجود ارتباط بین صفات مورفولوژیک با مکان ژنی نشانگر ریزماهواره در ژنوتیپ های جو می باشد.

مواد و روش ها

در این بررسی تنوع ژنتیکی شصت و چهار ژنوتیپ جو مورد مطالعه قرار گرفت.

نشانگر SSR: استخراج DNA از بافت برگ گیاهان جوان در مرحله ۴-۵ برگی با استفاده از روش تغییر یافته دلاپورتا و همکاران (Delaporta *et al.*, 1983) انجام شد.

برای بررسی کیفیت و خلوص DNA از

رسانده شد.

تنوع ژنتیکی با استفاده از محاسبه ماتریس همبستگی، در نرم افزار MVSP انجام شد.

DNA استخراج شده با ۱۴ جفت آغازگر SSR که توالی آن‌ها از بانک‌های اطلاعاتی^۱ به دست آمده بود تکثیر شدند. فرآورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی ژل پلی‌اکریل آمید واسرشت‌ساز ۶٪ بارگذاری و الکتروفورز شده و نوارهای حاصل توسط نیترا ت نقره رنگ آمیزی شدند.

نتایج و بحث

در این بررسی از ۱۴ جفت آغازگر ریزماهواره جهت بررسی تنوع ژنتیکی در ۶۴ ژنوتیپ جو (دیپلوئید) استفاده شد (جدول ۱). این آغازگرها از هفت کروموزوم جو انتخاب شدند به طوری که هر دو جفت آغازگر نماینده یک کروموزوم در هر بازو بودند. تعداد ۱۲۸ آلل با به کارگیری ۱۴ جفت آغازگر مشاهده شد، در این بین آغازگر hvm 11 با ۲ آلل دارای کمترین تعداد آلل و آغازگر ebmac 874 با ۱۷ آلل دارای بیشترین تعداد آلل در بین آغازگرهای مورد بررسی بود. میانگین تعداد آلل در کل جایگاه‌ها برابر ۹/۱۴ بود و در کل ۸۱ آلل پلی مورف به دست آمد. میانگین تعداد آلل در گیاه در کل جایگاه‌ها ۲ بود. با بررسی آلل‌ها مشاهده شد که برخی از پرایمرها در بعضی از ژنوتیپ‌ها هیچ نواری را تکثیر نمی‌کنند (جدول ۲). با توجه به سالم بودن DNA و چند بار تکرار آزمایش، به نظر می‌رسد که در ژنوتیپ‌های مذکور، وقوع جهش در یک یا دو طرف ناحیه تکرار شونده مانع از چسبیدن پرایمرها و تکثیر ناحیه بین دو پرایمر شده است.

پس از رنگ آمیزی، بهترین ژل به دست آمده برای هر آغازگر انتخاب شد. از آن جایی که داده‌های کیفی باید به داده‌های کمی تبدیل می‌شدند، به وجود نوار عدد یک و به عدم وجود آن صفر داده شد و سپس با نرم‌افزار NTSYS، روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد دندروگرام آن رسم شد.

برای بررسی قدرت تفکیک نشانگرها، محتوای اطلاعاتی پلی مورفیک (Polymorphic Information Content) PIC هر نشانگر با استفاده از نرم‌افزار Excel محاسبه شد:

$$PIC = \frac{N(1 - \sum p_i^2)}{n-1}$$

N تعداد نمونه‌ها و P_i فراوانی آلل i ام برای محاسبه هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی قابل انتظار، تعداد آلل‌های موثر، شاخص تثبیت و ضریب شانون از نرم‌افزار PopGen32 استفاده شد.

تجزیه به مختصات اصلی برای بررسی بیان

جدول ۱- شجره/نام ژنوتیپ‌های جو

Table 1. Name/pedigree of barley genotypes

Entry	Pedigree	Entry	Pedigree
1	L.527/Nk 1272//Eneldo"S"	33	Rihane//Aths/Bc
2	C.C.89/(Atem/Uni	34	Trompilo/Briggs
3	Trompilo/L.Moghan	35	LB.Iran/Una 8271//Gloria"S"/3/Kavir
4	LB.Iran/Una	36	LB.Iran/Una 8271//Gloria"S"/Come"s"-
5	Cln/80-	37	LB.Iran/Una
6	Violeta/Mja	38	Walfajre//Cossack/80-5125
7	Milagrosa/Cardo//Quina	39	Walfajre//Bahtim/7/D1(Mzq Gve)
8	Boldo/Aloe//Quina	40	Kavir/Ifb
9	LB.Iran/Una	41	Kavir/Oc840
10	Carbo/Gustoe	42	Th.Unk.48//Gaines/Ore"S"
11	L.527/Chn-01/6/UC566/5/M64-	43	AS 46/Aths*2/(Cm67/Centeno/...)
12	Rihane -03	44	Kavir/Arinar-
13	Lignee 527/Rhn//Arar	45	Comp89-9Cr-79-
14	Gustoe/Arar	46	Harmal-02/L.131//Mo.B1337
15	Rhn/Lignee 527	47	Walfajre/Miraj 1
16	Lignee 640/Bgs//Cel	48	Walfajre//Antares/Izmir 252 2
17	ER/Apm//AC253	49	AS46/Aths*2/(Centene//Cam/3/...
18	Hd/Aths//Pyo/D170/3/Apm/5106/4/A	50	Ashar/Rojo
19	Zarjow//Dmr 27/Wi 2197	51	L.131/Cerbel//Alger-
20	Walfajre/(Manker//Apm/Rl/5/Sp"2H	52	L.131/Cerbel//Alger-Ceres/3/Kavir
21	Ci10143/Choyo//M64.76/3/L.640	53	Delisa/Alger-Ceres//(Jeferson/Pi..
22	L.640//L.527/Mb 2367	54	L.640/Productive
23	Hr/Nopa -Cm- Swm 78A 10043-	55	J1-Japanese cultivar
24	Kavir/Badia//Robur/1245/3/Robur/L	56	J2-japanese cultivar
25	Karoon/CS.53/Hiproly//Productive	57	J3-Japanese cultivar
26	Suifu//Walfajre//Desnud Navaro	58	J4-Japanese cultivar
27	C.C.89/Va 88-11-7	59	J5-Japanese cultivar
28	121438/LbIran/Una	60	J6-Japanese cultivar
29	Th.Unk.48//Miraj/C4005-75	61	J7-Japanese cultivar
30	Th.Unk.48/Badia	62	J8-Japanese cultivar
31	Composit-1-92-2	63	J9-Japanese cultivar
32	Composit-1-92-6	64	J10-Japanese cultivar

جدول ۲- تعداد آلل به دست آمده هر آغازگر و تعداد ژنوتیپ‌های فاقد نوار

Table 2. Number of alleles of each primer and null alleles genotypes

آغازگر Marker	کروموزوم Chromosome	تعداد آلل No. alleles	تعداد ژنوتیپ‌های فاقد نوار No. null allele genotypes
bmac 154	1	9	2
ebmac 501	1	13	1
hvm 54	2	8	-
bmag 378	2	8	3
bmag 225	3	14	5
hvm 60	3	12	6
bmag 375	4	5	1
ebmac 679	4	12	--
bmag 222	5	11	2
gms 61	5	4	3
ebmac 874	6	17	10
hvm 11	6	2	3
hvmac	7	5	--
bmac 167	7	9	2

Bmag 225 (۱۵۶ bp) با ژنوتیپ‌های دارای تعداد زیاد سنبلیچه در سنبله، مکان ژنی Gms 61 (۱۶۲ bp) با ژنوتیپ‌های تعداد روز تا گلدهی بالا و مکان ژنی Ebmac 679 (۱۳۴ bp) با اکثر ژنوتیپ‌های دارای طول کوتاه دوره پر شدن دانه همبستگی نشان دادند. از بین ۱۴ نشانگر، نشانگرهای Ebmac 874، Hvm 11، Hvm 54 و Bmag 222 با هیچ کدام از صفات همبستگی نشان ندادند (جدول ۵).

تجزیه خوشه‌ای اطلاعات مولکولی بر اساس ضریب تشابه جاکارد

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس نمره‌دهی صفر و یک به نوارها انجام شد با ترسیم خط برش در فاصله ۰/۲۶، ۶۴ ژنوتیپ مورد مطالعه در ده کلاستر قرار گرفتند (شکل ۱). پرایمرهای مورد استفاده توانستند تمامی ژنوتیپ‌ها را به خوبی از هم جدا و بازشناسی کنند. بر اساس آغازگرهای بررسی شده، ژنوتیپ‌های ۵۴ و ۵۵ به میزان ۹۵٪ بیشترین شباهت را به خود اختصاص دادند و ژنوتیپ‌های ۴۷ با ۳۹ و ۴۶، ۷۱٪ تشابه و ژنوتیپ ۵۰ با ۵۳، ۴۸، ۸۲٪ تشابه داشتند. ژنوتیپ‌های ۹ با ۵۷ و ۵۸ کمترین شباهت را به میزان ۱۸٪ نشان دادند. با در نظر گرفتن کل ضرایب تشابه می‌توان گفت ۶۴ ژنوتیپ بررسی شده با توجه به آغازگرهای استفاده شده، ۵۰٪ با یکدیگر اختلاف دارند و این نشان دهنده تنوع بالای ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌ها است.

محاسبه فراوانی اندازه نوارها

فراوانی آلل‌های مختلف در هر مکان ژنی

PIC محاسبه شده برای ۱۴ جفت آغازگر مورد استفاده بین ۰/۸۹ - ۰/۴۹ بود که میانگینی برابر ۰/۶۹ داشت. ظرفیت پلی‌مورفیسم مارکرهای SSR به تفکیک در جدول ۳ آمده است، بیشترین PIC مربوط به آغازگر ebmac 874 و bmag 225 و کم‌ترین مربوط به آغازگر hvm 11 بود.

میانگین تعداد آلل‌های موثر ۵/۲۳ بود که بیشترین آن مربوط به مکان ژنی Bmag 225 و کمترین مقدار متعلق به مکان ژنی Hvm 11 بود. ضریب شانون نیز میزان چند شکلی هر آغازگر را نشان داد و معادل PIC محاسبه شده بود (جدول ۳ و ۴).

رابطه صفات مورفولوژیک با نوارهای SSR

در محاسبه همبستگی مشخص شد که تعدادی از صفات مورفولوژیک با برخی نوارهای آلل‌های ریزماهواره رابطه نشان دادند. از بین صفاتی که میزان بیشتری از همبستگی را با نوارهای SSR داشتند میزان صفت در تمامی ژنوتیپ‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج زیر به دست آمد:

مکان ژنی Ebmac 679 (۱۴۴ bp) با ژنوتیپ‌های دارای تعداد پنجه، تعداد برگ و تعداد سنبله کم، مکان ژنی Bmac 154 (۱۶۶ bp) با اکثر ژنوتیپ‌های دارای تعداد گره و تعداد روز تا گلدهی بالا، مکان ژنی Ebmac 501 (۱۵۲ bp) با اکثر ژنوتیپ‌های ریشک کوتاه، مکان ژنی Bmac 154 (۱۷۹ bp) ژنوتیپ‌های ریشک بلند، مکان ژنی

جدول ۳- PIC محاسبه شده برای ۱۴ آغازگر SSR به کار گرفته شده

Table 3. Calculated PICs for the 14 SSR primers

Primer	PIC	Primer	PIC
bmac 154	0.78	bmag 225	0.89
ebmac 679	0.85	hvm 60	0.81
bmag 375	0.65	ebmac 874	0.89
hvmac	0.67	bmag 222	0.79
gms 61	0.60	bmag 378	0.69
bmac 167	0.84	hvm 11	0.49
ebmac 501	0.86	hvm 54	0.78

جدول ۴- تعداد آلل های موثر، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، شاخص تثبیت و ضریب

شانون

Table 4. Effective number of alleles, Observed heterozygosity, Expected heterozygosity, Fixation index and Shannon index

نشانهگر	تعداد آلل های موثر	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	شاخص تثبیت	Shannon index
Primer	Effective number of alleles per locus	Expected heterozygosity	Observed heterozygosity	Fixation index	
Bmac	4.81	0.80	1.00	-0.26	1.83
Bmag	8.88	0.90	1.00	-0.13	2.36
Ebmac	7.69	0.88	1.00	-0.15	2.18
Gms 61	3.02	0.69	1.00	-0.55	1.18
Hvm 60	5.63	0.83	1.00	-0.22	1.97
Bmac	6.42	0.85	1.00	-0.18	1.98
Bmag	3.33	0.74	1.00	-0.43	1.27
Ebmac	6.62	0.86	1.00	-0.18	2.12
Hvm 11	2.00	0.51	1.00	-1.00	0.69
Hvmac	2.94	0.67	1.00	-0.50	1.26
Bmag	5.57	0.83	1.00	-0.22	1.96
Bmag	3.21	0.70	1.00	-0.45	1.38
Ebmac	8.50	0.93	1.00	-0.13	2.35
Hvm 54	4.60	0.83	1.00	-0.27	1.77

محاسبه شد. بیشترین فراوانی در ژنوتیپ های ۵۴-۱ مربوط به وزن آلل های ۱۷۳، ۱۵۶، ۱۲۹، ۱۴۱، ۱۸۱، ۱۹۵، ۱۵۰، ۱۵۲، ۱۴۸ و ۱۷۲ بود که به ترتیب در جایگاه های bmac 154، gms 61، hvm 60، hvm 11 (دو آلل)، hvmac (دو آلل)، bmag 378 و hvm 54 قرار داشتند. از طرفی در مکان های ژنی bmac 225، ebmac 679، hvm 11 (دو آلل)، bmac 167، hvm 60 (دو آلل)، ebmac 679، bmag 375 و ebmac 874 (دو آلل) به ترتیب در وزن های ۱۶۴، ۱۶۹، ۱۸۷، ۱۵۶، ۱۱۴، ۱۸۴ و ۲۲۹ فاقد نوار بودند (جدول ۴).

جدول ۵- رگرسیون صفات مورفولوژیک با آغازگرهای مورد بررسی

Table 5. Regression between morphological traits and the studied primers

صفت	آغازگر	شماره کروموزوم	وزن نوار	R ² (Adjusted)	صفت	آغازگر	شماره کروموزوم	وزن نوار	R ² (Adjusted)
Character	Primer	Chromosome	Weight of Band		Character	Primer	Chromosome	Weight of Band	
Biomass	بیومس Hvmac	7	152 bp	0.24	تعداد سنبله	Bmac 154	1	181 bp	0.78
Biomass	بیومس Bmag 225	3	181 bp	0.43	طول ساقه اصلی	Ebmac 501	1	179 bp	0.31
Biomass	بیومس Ebmac 679	4	132 bp	0.52	طول ساقه اصلی	Bmag 378	2	149 bp	0.44
Biomass	بیومس Hvm 54	2	160 bp	0.61	طول ساقه اصلی	Hvm 60	3	122 bp	0.54
Number of tiller	تعداد پنجه Bmac 154	1	161 bp	0.33	طول ساقه اصلی	Bmag 225	3	181 bp	0.63
Number of tiller	تعداد پنجه Bmag 375	4	141 bp	0.40	طول ساقه اصلی	Ebmac 679	4	164 bp	0.68
Number of tiller	تعداد پنجه Ebmac 679	4	132 bp	0.47	طول ساقه اصلی	Bmag 225	3	177 bp	0.76
Number of tiller	تعداد پنجه Hvm 11	6	195 bp	0.52	طول ساقه اصلی	Hvm 54	2	175 bp	0.81
Number of Node	تعداد گره ساقه اصلی Bmac 154	1	166 bp	0.38	ارتفاع گیاه	Ebmac 501	1	179 bp	0.20
Number of Node	تعداد گره ساقه اصلی Bmag 378	2	160 bp	0.47	ارتفاع گیاه	Hvm 60	3	129 bp	0.32
Number of Node	تعداد گره ساقه اصلی Bmag 225	3	168 bp	0.55	ارتفاع گیاه	Bmac 378	2	145 bp	0.43
Number of Node	تعداد گره ساقه اصلی Bmag 375	4	143 bp	0.60	ارتفاع گیاه	Bmac 154	1	163 bp	0.50
Number of Node	تعداد گره ساقه اصلی Gms 61	5	154 bp	0.66	ارتفاع گیاه	Bmac 167	7	198 bp	0.58
Number of Leaves	تعداد برگ Hvm 11	6	195 bp	0.15	ارتفاع گیاه	Hvm 60	3	122 bp	0.64
Number of Leaves	تعداد برگ Bmag 225	3	170 bp	0.24	ارتفاع گیاه	Gms 61	5	162 bp	0.68
Number of Leaves	تعداد برگ Bmac 154	1	176 bp	0.35	ارتفاع گیاه	Bmac 154	1	176 bp	0.72
Number of Leaves	تعداد برگ Ebmac 874	6	267 bp	0.44	دم گل آذین	Gms 61	5	156 bp	0.22
Number of Leaves	تعداد برگ Hvm 60	3	131 bp	0.52	دم گل آذین	Ebmac 874	6	194 bp	0.29
Number of Leaves	تعداد برگ Hvm 60	3	114 bp	0.61	دم گل آذین	Ebmac 501	1	154 bp	0.39
Number of Leaves	تعداد برگ Bmac 154	1	163 bp	0.68	دم گل آذین	Bmac 154	1	166 bp	0.45
Number of Leaves	تعداد برگ Ebmac 679	4	156 bp	0.73	دم گل آذین	Ebmac 874	6	194 bp	0.53
Number of Leaves	تعداد برگ Bmag 222	5	174 bp	0.76	طول بیرون آمدگی دم گل آذین	Gms 61	5	156 bp	0.26
Number of Leaves	تعداد برگ Bmac 167	7	212 bp	0.79	طول بیرون آمدگی دم گل آذین	Bmag 375	4	146 bp	0.34
Number of Spike	تعداد سنبله Ebmac 874	6	229 bp	0.19	طول بیرون آمدگی دم گل آذین	Hvm 60	3	131 bp	0.40
Number of Spike	تعداد سنبله Bmag 225	3	170 bp	0.32	طول سنبله اصلی	Ebmac 679	4	170 bp	0.35
Number of Spike	تعداد سنبله Bmac 375	4	146 bp	0.46	طول سنبله اصلی	Hvmac	7	154 bp	0.48
Number of Spike	تعداد سنبله Bmag 378	2	145 bp	0.58	طول سنبله اصلی	Bmag 378	2	149 bp	0.58
Number of Spike	تعداد سنبله Ebmac 679	4	132 bp	0.64	طول سنبله اصلی	Gms 61	5	156 bp	0.64
Number of Spike	تعداد سنبله Ebmac 874	6	236 bp	0.69	طول سنبله اصلی	Ebmac 501	1	152 bp	0.69

Table 5. Continued

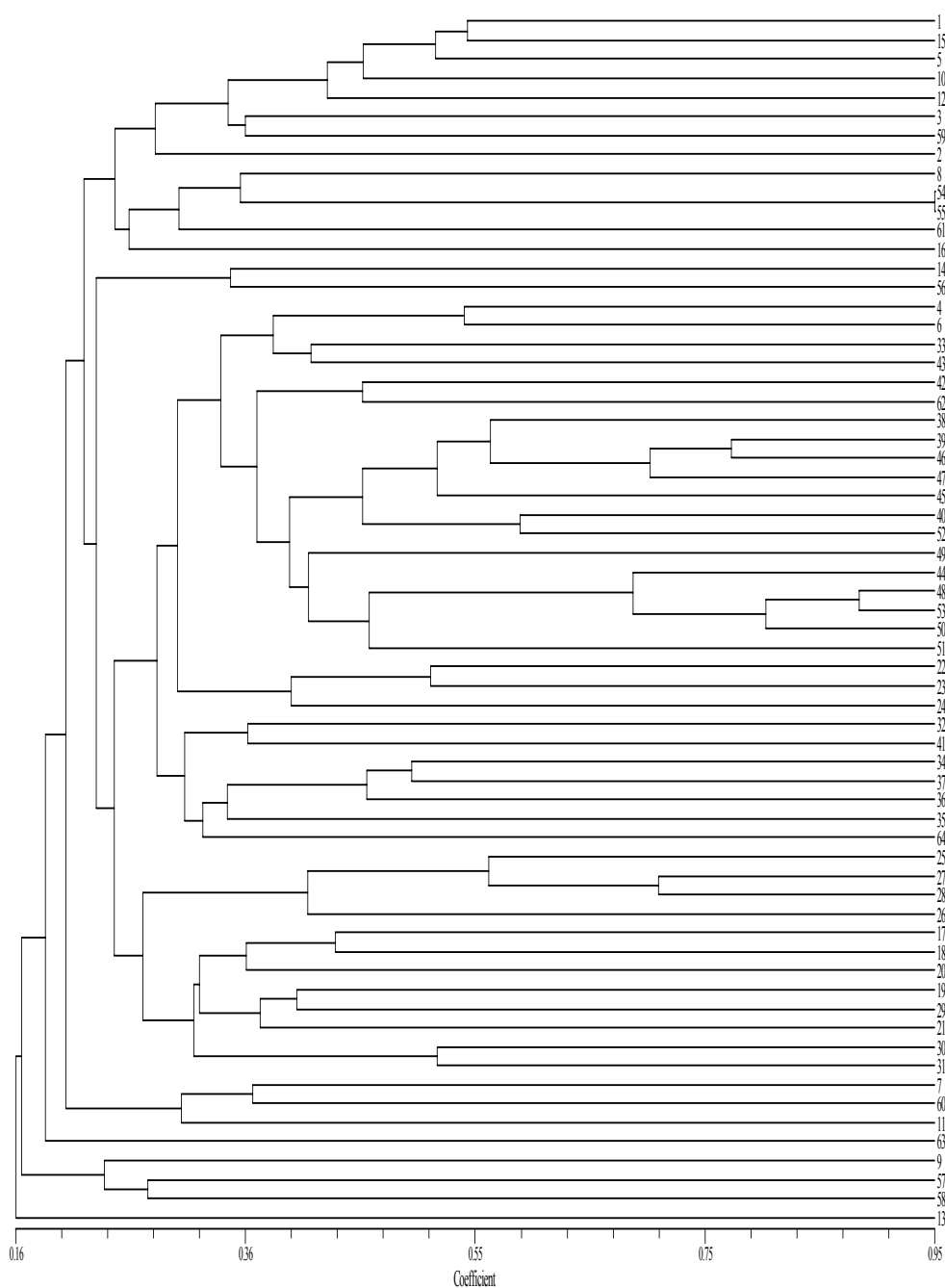
صفت	آغازگر	شماره کروموزوم	وزن نواری	R ² (Adjusted)	صفت	آغازگر	شماره کروموزوم	وزن نواری	R ² (Adjusted)		
Character	Primer	Chromosome	Weight of Band		Character	Primer	Chromosome	Weight of Band			
Length of awn	طول ریشک	Bmac 154	1	179 bp	0.51	وزن سنبله‌های فرعی	Bmag 222	5	189 bp	0.61	
Length of awn	طول ریشک	Ebmac 501	1	154 bp	0.66	وزن سنبله‌های فرعی	Bmac 167	7	198 bp	0.66	
Length of awn	طول ریشک	Bmac 154	1	176 bp	0.72	وزن سنبله‌های فرعی	Gms 61	5	154 bp	0.72	
Length of awn	طول ریشک	Bmag 222	5	174 bp	0.76	وزن سنبله‌های فرعی	Ebmac 501	1	178 bp	0.82	
Length of awn	طول ریشک	Hvm 11	6	195 bp	0.79	وزن سنبله‌های فرعی	Ebmac 679	4	134 bp	0.85	
Length of awn	طول ریشک	Ebmac 501	1	183 bp	0.84	وزن سنبله‌های فرعی	Bmag 375	4	146 bp	0.88	
Length of awn	طول ریشک	Ebmac 501	1	152 bp	0.87	وزن سنبله‌های فرعی	Bmac 154	1	163 bp	0.90	
Length of awn	طول ریشک	Ebmac 874	6	236 bp	0.90	وزن سنبله‌های فرعی	Ebmac 501	1	172 bp	0.91	
Length of awn	طول ریشک	Ebmac 679	4	132 bp	0.91	وزن سنبله‌های فرعی	Hvm 60	3	114 bp	0.93	
Length of awn	طول ریشک	Bmag 225	3	171 bp	0.92	وزن سنبله‌های فرعی	Hvm 60	3	116 bp	0.94	
Length of awn	طول ریشک	Hvmac	7	162 bp	0.94	وزن سنبله‌های فرعی	Hvm 60	3	120 bp	0.95	
Length of awn	طول ریشک	Bmag 378	2	150 bp	0.95	وزن سنبله‌های فرعی	Bmag 225	3	170 bp	0.97	
Length of awn	طول ریشک	Ebmac 874	6	234 bp	0.96	وزن سنبله‌های فرعی	Bmag 225	3	154 bp	0.97	
Length of awn	طول ریشک	Bmag 225	3	175 bp	0.97	وزن سنبله‌های فرعی	Bmag 222	5	182 bp	0.98	
Length of awn	طول ریشک	Bmac 167	7	214 bp	0.97	وزن سنبله‌های فرعی	Ebmac 874	6	267 bp	0.98	
Length of awn	طول ریشک	Hvm 60	3	120 bp	0.98	وزن سنبله‌های فرعی	Bmac 167	7	212 bp	0.98	
Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی	hvmac	7	152 bp	0.31	عملکرد	hvmac	7	152 bp	0.26	
Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی	Hvm 60	3	122 bp	0.45	عملکرد	Ebmac 679	4	170 bp	0.42	
Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی	Hvmac	7	154 bp	0.54	عملکرد	Bmag 225	3	181 bp	0.50	
Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی	Bmag 222	5	188 bp	0.62	عملکرد	Bmag 225	3	177 bp	0.58	
Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی	Ebmac 679	4	132 bp	0.68	عملکرد	Ebmac 874	6	229 bp	0.64	
Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی	Bmag 225	3	177 bp	0.71	عملکرد	Ebmac 501	1	174 bp	0.69	
Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی	Bmac 167	7	219 bp	0.76	عملکرد	Ebmac 679	4	132 bp	0.74	
Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی	Hvm 60	3	140 bp	0.79	طول محور سنبله اصلی	Ebmac 679	4	170 bp	0.31	
Rachis	طول محور سنبله اصلی	hvmac	7	150 bp	0.43	Diameter of Stem	قطر ساقه	Bmac 167	7	219 bp	0.81
Rachis	طول محور سنبله اصلی	Bmag 222	5	188 bp	0.48	Diameter of Stem	قطر ساقه	Ebmac 679	4	164 bp	0.84
Rachis	طول محور سنبله اصلی	Hvm 60	3	122 bp	0.54	Diameter of Stem	قطر ساقه	Bmac 154	1	176 bp	0.86
Rachis	طول محور سنبله اصلی	Hvm 11	6	181 bp	0.59	Days to Flowering	تعداد روز تا گلدهی	Bmac 154	1	166 bp	0.35
Rachis	طول محور سنبله اصلی	Hvmac	7	154 bp	0.63	Days to Flowering	تعداد روز تا گلدهی	Gms 61	5	156 bp	0.50
Rachis	طول محور سنبله اصلی	Ebmac 679	4	147 bp	0.70	Days to Flowering	تعداد روز تا گلدهی	Hvm 54	2	167 bp	0.58

Table 5. Continued

صفت Character	آغازگر Primer	شماره کروموزوم Chromosome	وزن نوار Weight of Band	R ² (Adjusted)	صفت Character	آغازگر Primer	شماره کروموزوم Chromosome	وزن نوار Weight of Band	R ² (Adjusted)
Lenght of Main spike	طول سنبله اصلی Hvm 54	2	170 bp	0.74	Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی Hvm 54	2	160 bp	0.83
Lenght of Main spike	طول سنبله اصلی Bmag 225	3	185 bp	0.78	Weight of Main spike	وزن سنبله اصلی Bmag 222	5	189 bp	0.86
Lenght of Main spike	طول سنبله اصلی Bmag 222	5	188 bp	0.81	Weight of Spikes	وزن سنبله‌های فرعی Bmag 225	3	181 bp	0.27
Lenght of Main spike	طول سنبله اصلی Bmac 154	1	179 bp	0.85	Weight of Spikes	وزن سنبله‌های فرعی Hvmac	7	152 bp	0.45
Length of awn	طول ریشک Bmac 167	7	197 bp	0.34	Weight of Spikes	وزن سنبله‌های فرعی Bmag 225	3	177 bp	0.52
Rachis	طول محور سنبله اصلی Ebmac 501	1	176 bp	0.74	Days to Flowering	تعداد روز تا گلدهی Bmag 378	2	160 bp	0.66
Number Spiklet per Spike	تعداد سنبلچه در سنبله Ebmac 679	4	179 bp	0.23	Days to Flowering	تعداد روز تا گلدهی Bmag 378	2	145 bp	0.70
Number Spiklet per Spike	تعداد سنبلچه در سنبله Hvmac	7	154 bp	0.34	Days to Flowering	تعداد روز تا گلدهی Bmac 167	7	198 bp	0.77
Number Spiklet per Spike	تعداد سنبلچه در سنبله Ebmac 679	4	147 bp	0.50	Days to Maturity	تعداد روز تا رسیدن Gms 61	5	162 bp	0.40
Number Spiklet per Spike	تعداد سنبلچه در سنبله Bmag 222	5	174 bp	0.60	Days to Maturity	تعداد روز تا رسیدن Hvmac	7	154 bp	0.47
Number Spiklet per Spike	تعداد سنبلچه در سنبله Bmag 378	2	148 bp	0.67	Days to Maturity	تعداد روز تا رسیدن Ebmac 679	4	166 bp	0.53
Number Spiklet per Spike	تعداد سنبلچه در سنبله Bmac 154	1	176 bp	0.72	Days to Maturity	تعداد روز تا رسیدن Ebmac 874	6	236 bp	0.58
Number Spiklet per Spike	تعداد سنبلچه در سنبله Bmag 225	3	177 bp	0.76	Days to Maturity	تعداد روز تا رسیدن Ebmac 501	1	172 bp	0.63
Weight of 100 seed	وزن ۱۰۰ دانه Bmac 154	1	166 bp	0.12	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Bmac 154	1	166 bp	0.30
Weight of 100 seed	وزن ۱۰۰ دانه hvmac	7	157 bp	0.33	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Ebmac 874	6	236 bp	0.43
Weight of 100 seed	وزن ۱۰۰ دانه Bmag 222	5	174 bp	0.43	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Ebmac 501	1	176 bp	0.56
Weight of 100 seed	وزن ۱۰۰ دانه Bmag 222	5	188 bp	0.55	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Bmac 375	4	141 bp	0.64
Weight of 100 seed	وزن ۱۰۰ دانه Ebmac 874	6	243 bp	0.63	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Ebmac 501	1	174 bp	0.69
Weight of 100 seed	وزن ۱۰۰ دانه Hvm 60	3	114 bp	0.68	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Bmac 154	1	176 bp	0.72
Diameter of Stem	قطر ساقه Hvm 54	2	158 bp	0.15	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Hvm 60	3	122 bp	0.76
Diameter of Stem	قطر ساقه Ebmac 874	6	243 bp	0.27	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Bmag 378	2	148 bp	0.80
Diameter of Stem	قطر ساقه Bmag 225	3	181 bp	0.34	Days to Filling	طول دوره پر شدن دانه Ebmac 874	6	191 bp	0.83
Diameter of Stem	قطر ساقه Bmag 225	3	170 bp	0.45	HI	شاخص برداشت Bmag 378	2	160 bp	0.30
Diameter of Stem	قطر ساقه Bmag 225	3	187 bp	0.53	HI	شاخص برداشت Bmac 154	1	166 bp	0.53
Diameter of Stem	قطر ساقه Bmag 222	5	188 bp	0.61	HI	شاخص برداشت Hvm 11	6	195 bp	0.60
Diameter of Stem	قطر ساقه Bmag 375	4	143 bp	0.66	HI	شاخص برداشت Ebmac 874	6	186 bp	0.64
Diameter of Stem	قطر ساقه Ebmac 679	4	147 bp	0.73	HI	شاخص برداشت Ebmac 874	6	267 bp	0.69
Diameter of Stem	قطر ساقه Ebmac 679	4	166 bp	0.76	HI	شاخص برداشت Bmag 222	5	174 bp	0.72

جدول ۶- فراوانی آلل‌های ژنوتیپ‌های شماره ۵۴- ۱ جو
 Table 6. Alleles frequency of barley genotypes nos. 1-54

Bmac 154 آغازگر		Bmag 225 آغازگر		Ebmāc 501 آغازگر		Gms 61 آغازگر		Hvm 60 آغازگر		Bmac 167 آغازگر		Bmag 375 آغازگر	
وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency
159	0.055	154	0.055	150	0.018	154	0.222	90	0.018	195	0.037	141	0.518
161	0.074	156	0.018	152	0.166	156	0.759	92	0.018	197	0.111	143	0.388
163	0.037	164	0.000	154	0.388	162	0.203	114	0.111	198	0.166	146	0.185
166	0.018	168	0.166	167	0.018	165	0.018	116	0.185	199	0.129	148	0.037
170	0.148	170	0.203	169	0.000			118	0.055	207	0.388	156	0.000
173	0.537	171	0.074	172	0.166			120	0.018	213	0.425		
176	0.462	173	0.111	174	0.203			122	0.037	214	0.185		
179	0.203	175	0.037	176	0.111			123	0.314	217	0.240		
181	0.055	177	0.148	178	0.333			129	0.518	219	0.092		
		179	0.222	179	0.388			131	0.370				
		181	0.037	183	0.129			140	0.074				
		183	0.055	185	0.037			141	0.037				
		185	0.092	187	0								
		187	0.037										
132	0.111	181	0.703	150	0.518	172	0.037	114	0.000	184	0.000	158	0.111
134	0.240	195	0.851	152	0.907	174	0.481	143	0.037	186	0.111	160	0.018
140	0.037			154	0.166	178	0.425	145	0.037	189	0.018	163	0.055
144	0.037			157	0.037	179	0.240	147	0.350	191	0.148	167	0.259
147	0.055			162	0.277	180	0.037	148	0.770	193	0.018	170	0.351
149	0.018					182	0.092	149	0.444	194	0.018	172	0.759
156	0.166					187	0.037	150	0.018	197	0.074	175	0.166
161	0.129					188	0.018	160	0.018	200	0.018	178	0.148
164	0.037					189	0.037			229	0.000		
166	0.425					211	0.129			232	0.166		
168	0.481									234	0.240		
170	0.185									236	0.259		
										238	0.055		
										243	0.129		
										250	0.055		
										255	0.018		
										267	0.074		



شکل ۱- گروه بندی ژنوتیپ های جو با استفاده ضریب تشابه جاکارد بر اساس نشانگر ریزماهواره
 Fig. 1. Grouping of barley genotypes using Jaccard's similar coefficient based on SSR markers

۱۷۸، ۱۴۸، ۱۴۹ و ۱۷۲ دارای بیشترین فراوانی hvmac (دو آلل)، bmag 378، bmag 222 (دو آلل) و hvm 54 به ترتیب در وزن های ۱۷۳، ۱۲۹، ۱۷۸، ۱۴۸، ۱۴۹، ۱۷۳، ۱۷۲ و ۱۷۱ بودند. در وزن های ۱۷۰، ۱۸۱، ۱۵۶، ۱۶۸، ۱۷۱، ۱۳۱، ۱۹۸، ۱۴۳، ۱۶۸، ۱۸۱، ۱۹۵، ۱۵۰، ۱۵۲، ۱۷۵، ۱۸۵، ۱۵۰، ۱۶۷، ۹۰، ۹۲، ۱۱۸، ۱۲۰، ۱۴۱

تنوع ژنتیکی تعداد زیادی از ارقام برنج (Yang *et al.*, 1994)، سویا (Rongwen *et al.*, 1995)، گندم (Plaschke *et al.*, 1995)، ذرت (Senior *et al.*, 1998) و جو (Ramsay *et al.*, 2000) مورد استفاده قرار گرفته است. بر اساس آخرین مطالعات انجام شده تعداد آلل‌های تکثیر شده در هر لوکوس بین ۲-۲۳ برای برنج، ۱۱-۲۶ برای سویا، ۲-۱۶ برای گندم، ۲-۲۳ برای ذرت و ۵-۱۵ برای جو گزارش شده است. در این تحقیق تعداد آلل‌های ژنوتیپ‌ها بین ۱-۱۷ بود که نشان‌دهنده تنوع بالا در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی است. نتایج مشخص کردند که تنوع زیاد مشاهده شده به علت تغییر در نواحی تکرار شونده ژنومی جو در اثر برنامه‌های به‌نژادی و انتخاب طبیعی در این ژنوتیپ بوده است.

میزان PIC، و ضریب شانون بیانگر میزان پلی مورفیسم در بین ژنوتیپ‌ها است. در این تحقیق میانگین PIC و میانگین ضریب شانون، به ترتیب ۰/۶۹ و ۱/۷۳ به دست آمد که نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی بالا در ژنوتیپ‌های مورد بررسی است. میانگین تعداد آلل‌های موثر و شاخص تثبیت دلیل دیگری بر بالا بودن تنوع ژنتیکی است. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۱/۰۰) بیش از هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۷۸) بود و با در نظر گرفتن این نکته که دگر کرده‌افشانی جو کمتر از ۵٪ است، مشخص می‌گردد که رانش ژنتیکی (Drift) رخ نداده

۱۹۵، ۲۱۴، ۲۱۷، ۲۱۹، ۱۴۸، ۱۴۰، ۱۴۴، ۱۵۶، ۱۸۰، ۲۱۱، ۱۴۷، ۱۵۰، ۱۸۹، ۱۹۷، ۲۰۰، ۲۳۸، ۲۴۳ و ۲۵۰ جفت باز به ترتیب در مکان‌های ژنی 154 bmac (دو آلل)، 225 bmag (دو آلل)، 501 ebmac (دو آلل)، 60 hvm (۵ آلل)، 167 mac (۴ آلل)، 375 bmag، 679 ebmac (۳ آلل)، 222 bmag (۲ آلل)، 378 bmag (۲ آلل) و 874 ebmac (۶ آلل) فاقد نوار بودند (جدول ۷).

تجزیه به مختصات اصلی

کاربرد زیادی در تجزیه تنوع ژنتیکی دارد. میزان واریانس نسبی هر مولفه نشان دهنده اهمیت آن مولفه در واریانس کل است و به صورت درصد بیان می‌شود. در این تجزیه، دو مولفه اصلی توانستند مجموعاً ۱۶/۶۹ درصد از واریانس کل را توجیه کنند. مولفه اول ۸/۹۵ درصد از واریانس کل و مولفه دوم ۷/۷۴ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. بر اساس مولفه‌های اصلی نمودار الگوی تنوع میان ژنوتیپ‌ها رسم شد (جدول ۸ و شکل‌های ۲ و ۳).

محاسبه ضریب همبستگی کوفتیک

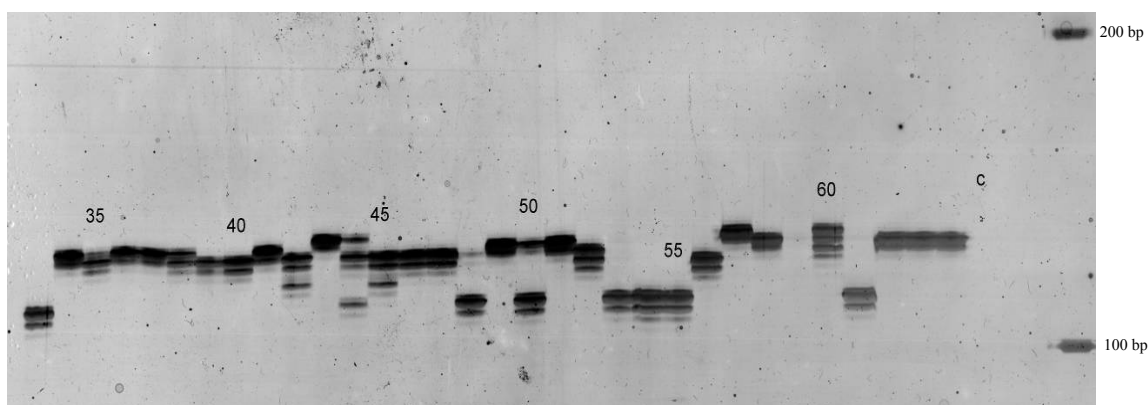
برای نشان دادن میزان همبستگی میان ماتریس ورودی (داده‌های مولکولی) و ماتریس خروجی، ضریب همبستگی کوفتیک برای داده‌های مولکولی محاسبه شد و $I=0/73$ به دست آمد که نشان می‌دهد ۰/۷۳٪ ماتریس ورودی به دندروگرام منتقل شده است. نشانگرهای ریزماهواره برای بررسی

جدول ۷- فراوانی آلل‌های ژنوتیپ‌های شماره ۶۴-۵۵ جو
 Table 7. Alleles frequency of barley genotypes nos. 55-64

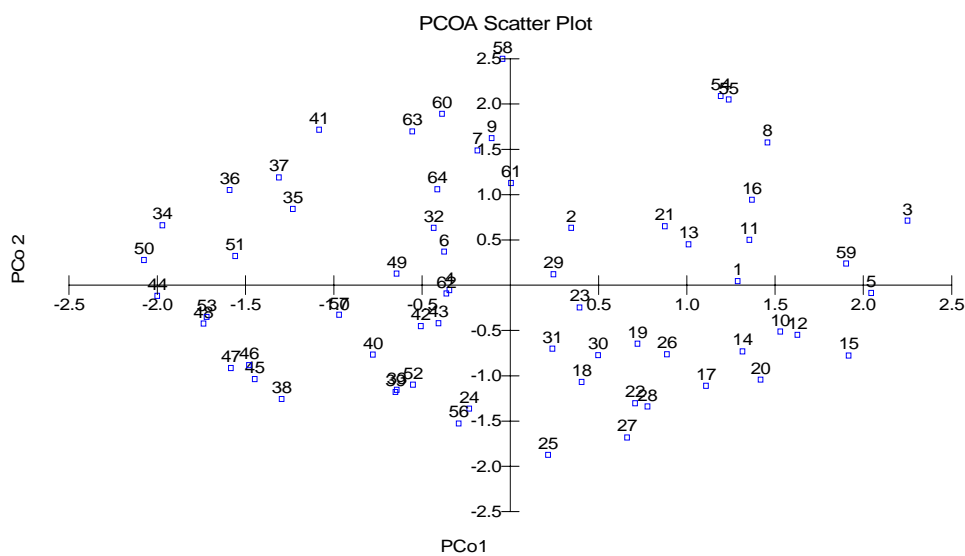
Bmac 154 آغازگر		Bmag 225 آغازگر		Ebmac 501 آغازگر		Gms 61 آغازگر		Hvm 60 آغازگر		Bmac 167 آغازگر		Bmag 375 آغازگر	
وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency	وزن آلل Weight	فراوانی آلل Frequency
159	0.200	154	0.200	150	0.000	154	0.300	90	0.000	195	0.000	141	0.400
161	0.100	156	0.000	152	0.300	156	0.200	92	0.000	197	0.400	143	0.500
163	0.200	164	0.200	154	0.300	162	0.300	114	0.200	198	0.600	146	0.200
166	0.400	168	0.000	167	0.000	165	0.300	116	0.200	199	0.100	148	0.000
170	0.000	170	0.300	169	0.100			118	0.000	207	0.400	156	0.100
173	0.600	171	0.000	172	0.100			120	0.000	213	0.400		
176	0.400	173	0.100	174	0.300			122	0.100	214	0.000		
179	0.100	175	0.000	176	0.300			123	0.100	217	0.000		
181	0.000	177	0.000	178	0.100			129	0.500	219	0.000		
		179	0.200	179	0.200			131	0.500				
		181	0.100	183	0.100			140	0.200				
		183	0.100	185	0.100			141	0.000				
		185	0.000	187	0.100								
		187	0.100										
132	0.100	181	0.500	150	0.500	172	0.100	114	0.100	184	0.200	158	0.200
134	0.400	195	0.800	152	0.700	174	0.200	143	0.200	186	0.400	160	0.300
140	0.000			154	0.100	178	0.500	145	0.200	189	0.000	163	0.100
144	0.000			157	0.100	179	0.100	147	0.000	191	0.200	167	0.200
147	0.100			162	0.300	180	0.000	148	0.600	193	0.100	170	0.300
149	0.200					182	0.200	149	0.600	194	0.100	172	0.500
156	0.000					187	0.000	150	0.000	197	0.000	175	0.300
161	0.100					188	0.100	160	0.100	200	0.000	178	0.100
164	0.100					189	0.100			229	0.200		
166	0.200							211	0.000	232	0.100		
168	0.500									234	0.300		
170	0.300									236	0.200		
										238	0.000		
										243	0.000		
										250	0.000		
										255	0.000		
										267	0.100		

جدول ۸- درصد واریانس و درصد تجمعی برای دو مولفه اصلی
Table 8. Percent of variance and cumulative for two main principal coordinate

مولفه‌های اصلی	درصد واریانس	درصد تجمعی
Principal component	Percent of variance	Percent of cumulative
First مولفه اول	8.95	8.95
Second مولفه دوم	7.74	16.694



شکل ۲- الگوی الکتروفورزی DNA ارقام ۳۳-۶۴ جو با استفاده از آغازگر hvm 60
Fig. 2. Electrophoretic pattern of genotypes 33-64 using hvm 60 primer



شکل ۳- الگوی تنوع ۶۴ ژنوتیپ جو مورد مطالعه بر اساس اولین و دومین مولفه اصلی
Fig. 3. Diversity pattern of 64 genotypes barley based of two main principal coordinate

ذخیره‌ای نیز ۱۰۰٪ به هم شبیه بودند (Hajmansoor *et al.*, 2009). از طرف دیگر ژنوتیپ‌هایی که از نظر صفات مورفولوژیک با هم اختلاف زیادی داشتند از نظر تشابه ژنتیکی نیز کمترین تشابه را نشان دادند. علت عدم مطابقت دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیک و SSR را شاید بتوان در تعداد کم نشانگر SSR در این تحقیق دانست.

در جو بیش از ۱۰۰۰ نشانگر مورفولوژیکی مشخص شده است و به طور تقریبی ۲۷۵ نشانگر مولکولی یافت شده‌اند که با صفات مورفولوژیک پیوستگی دارند (Franckowiak, 1997). در این تحقیق بین صفات مورفولوژیک و نوارهای به دست آمده در لوکوس‌های متفاوت تعدادی نشانگر اطلاعاتی (Informative marker) با میزان همبستگی کم به دست آمد. این آلل‌ها نیاز به آزمون‌های بعدی از جمله استفاده از ارقام موتانت و بک کراس‌های متوالی و همچنین بررسی در جمعیت و نسل‌های متوالی دارند. در چندین تحقیق که برای بررسی رابطه صفات مورفولوژیک و مولکولی انجام شده همبستگی کمی مشاهده شده است (Kjar *et al.*, 2004؛ Vollmann *et al.*, 2005؛ Semagn, 2002؛ Martinez *et al.*, 2003). دو دلیل برای توجیه عدم همبستگی ذکر شده است: ۱- نشانگرهای مولکولی قسمت بزرگی از ژنوم را شامل ناحیه‌های کد شونده و غیر کد شونده را پوشش می‌دهند که بخشی از آن مربوط به نشانگرهای

است. در تحقیقی که از ۲۲ نشانگر SSR بر روی ۲۸ رقم آلمانی و ۲ گونه وحشی استفاده گردید، میانگین PIC برابر ۰/۳۸ به دست آمد (Pillen *et al.*, 2000). تحقیقی دیگر از ۱۷ نشانگر SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی ۲۶ رقم تانزانایی استفاده گردید و مقدار pic، ۰/۴۵ به دست آمد (Hamza *et al.*, 2004). در بررسی که بر روی ۸۰ لاین جو انجام شد، میانگین تعداد آلل موثر ۳/۳۰ و میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۵۸ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۶۰ و میانگین شاخص تثبیت ۰/۷۱- برآورد شده است (Dizkirici *et al.*, 2008). نتایج مؤید این مطلب هستند که مکان‌های مارکری با تعداد آلل بیشتر، هتروزیگوسیتی بیشتری در ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهند، بنابراین بهتر است برای مطالعات تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها از این دسته آغازگرها استفاده کرد.

نتایج حاصل از مقایسه دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیک و اطلاعات مولکولی مطابقتی نشان ندادند. در تحقیقی که بر روی مطابقت دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیک و مولکولی انجام شده است مشخص شد که هر گاه اطلاعات مولکولی بین دو ژنوتیپ شباهت ژنتیکی نشان می‌دهند این دو از نظر مورفولوژیک نیز مشابه یک‌دیگر هستند (Burstin and Charcosset, 1997). در این تحقیق ژنوتیپ‌های شماره ۵۴ و ۵۵ که تشابه بالایی نشان دادند از نظر پروتئین

ارتباط مشاهده شد (Dahleen *et al.*, 2005). به منظور بررسی همبستگی نشانگر SSR با مکان ژنی صفات مورفولوژیک، جهت برنامه‌های اصلاحی و همچنین ردیابی صفات منتقل شده از ۱۳۰ جفت آغازگر SSR برای ژنوتیپ‌های استرالیایی استفاده شد و در ۱۸ مکان ژنی مرتبط به ۱۶ صفت همبستگی بالایی مشاهده شد (Karakousis *et al.*, 2003). به منظور یافتن ژن مقاومت به بیماری اسکالد جو، با استفاده از نشانگرهای مولکولی مشخص شد که ژن مقاوت به بیماری بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۴ جو قرار دارد (Pickering *et al.*, 2006).

به کارگیری نشانگرهای کانیدها در برنامه‌های به نژادی بسیار سودمند است. نشانگرهای کانیدها امکان دستورزی ژنتیکی برای انتخاب صفات مطلوب مورفولوژیک و زراعی را به اصلاح گران می‌دهد.

با مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های ۱-۵۴ و ۶۴-۵۵ (ژاپنی) مشخص شد که آللهایی با وزن ۱۷۳، ۱۲۹، ۱۸۱، ۱۹۵، ۱۵۰، ۱۵۲، ۱۴۸ و ۱۷۲ به ترتیب در مکان‌های ژنی bmac 154، hvm 60، hvm 11 (۲ آلل)، hvmac (۲ آلل)، bmag 378 و hvm 54 در هر دو گروه دارای بیشترین فراوانی بودند که احتمالاً مربوط به نواحی اینترون ژنومی بوده که در برنامه‌های اصلاحی تغییراتی در آنها رخ نداده است. در این دو گروه ژنوتیپ برخی از آلل‌ها فاقد نوار بودند و با هم تفاوت نشان دادند. به عنوان مثال

مورفولوژیک است ۲- نشانگرهای مولکولی مانند نشانگرهای مورفولوژیک در طی برنامه‌های به نژادی تحت تاثیر انتخاب قرار نمی‌گیرند (Semagn, 2002).

در مقابل بر اساس بعضی مطالعات بین صفات مورفولوژیک و مولکولی همبستگی مشاهده شده است. در مطالعه‌ای که بر روی پیوستگی هشت صفت ارتفاع گیاه، طول پدانکل، طول ریشک، تعداد سنبلیچه در سنبله، طول برگ، وزن سنبله و عملکرد با لوکوس‌های به دست آمده در روش SSR انجام شد، پیوستگی معنی داری یافت شد (Lynn *et al.*, 2006). در یک بررسی به منظور یافتن ارقام جو متحمل به خشکی، ۴۸ نشانگر SSR بر روی ۲۴۱ ژنوتیپ جو که از مناطق مختلف سوریه و اردن جمع‌آوری شده بودند مورد آزمایش قرار گرفتند که در این آزمایش مارکرهای SSR پلی‌مورفیسم بسیار بالایی را آشکار ساختند (Choumane *et al.*, 2005). نتایج نشان داد که تنوع اندازه‌گیری شده با نشانگرهای SSR با تنوع صفات زراعی ارتباط نشان می‌دهند، بنابراین، از این روش می‌توان برای شناسایی ارتباطات نشانگر - صفت استفاده کرد. در تحقیقی نشانگرهای کانیدها مشخص کردند که صفات کمی مرتبط با عملکرد روی کروموزوم شماره ۵ قرار دارند (Spancer *et al.*, 1999). در تحقیقی دیگر بین تعدادی از صفات مورفولوژیک با مکان کروموزومی ژن‌های کنترل‌کننده صفات،

انتخاب شده باشند و توزیع مناسب و یکنواخت در ژنوم داشته باشند.

در نهایت نتایج نشان داد با توجه به این که انتخاب بر اساس نشانگرهای مولکولی یک روش سریع در برنامه های اصلاحی است (Land and Thomson., 1990) و اطلاعات ژنتیکی به دست آمده از نشانگرهای مولکولی در برنامه های اصلاحی نقش مهمی را ایفای کنند، بنابراین برای انتخاب ژنوتیپ برتر دارای ارزش بالایی هستند. نشانگر SSR برای تخمین تنوع ژنتیکی در بین ارقامی که وابستگی زیادی به هم دارند، انتخاب والدین مناسب، بررسی مخازن ژنی، ژن های مقاوم به بیماری و تنش های محیطی، کاهش هزینه های نقشه های پیوستگی و تلفیقی بسیار ارزشمند است.

انتخاب و استفاده از تعداد بیشتری آغازگر SSR با پراکنش کروموزومی بالا که بتوانند مکان های ژنی مختلف با تعداد آلل های بیشتر بر روی کروموزوم های مختلف را تکثیر و تا کلیه تفاوت ها و شباهت ها را آشکار کنند، پیشنهاد می شود.

در مکان ژنی ebmac 874 ژنوتیپ های ۵۴-۱ در وزن ۱۸۴ فاقد نوار بودند در حالی که ژنوتیپ های ژاپنی ۲۰ درصد فراوانی نشان دادند، بنابراین می توان از این روش برای رابطه بین والدین، لاین ها و هیبریدهای درون گونه ای و بین گونه ای و همچنین مراکز تنوع، مبدأ جغرافیای و شجره نمونه های مورد بررسی و ثبت الگوی ژنتیکی هر رقم استفاده کرد. البته ضروری است در راستای این امر از نشانگرهای بیشتری استفاده شود.

نتایج تجزیه PCo نشان داد که ۲ مولفه اول توانستند حدود ۱۶/۶۹ درصد از واریانس داده های مولکولی را توجیه کنند. این موضوع نشان داد که نشاگرهای ریز ماهواره مورد مطالعه در قسمت های مختلف ژنوم پراکنده هستند. با توجه به این که در این تحقیق بر روی هر کروموزوم جو از دو جفت نشانگر استفاده شد، بنابراین تنوع ژنتیکی به خوبی نشان داده شده است. نتیجه تجزیه به مولفه ها نیز این مطلب را تأیید کرد. در بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از داده های مولکولی بهترین حالت این است که نشانگرهای مولکولی از کروموزوم های مختلف

References

- Burstin, J., and Charcosset, A. 1997. Relationship between phenotypic and marker distances: Tropical and experimental investigation. *Heredity* 79: 477-483.
- Choumane, W., Baum, M., Russell, J., Grando, S., and Ceccarelli, S. 2005. Using DNA markers for the identification of drought tolerant accessions in barley Improving Water-Use Efficiency in Mediterranean agriculture: what limits the adoption of new technologies? WUEMED Rome, September 29-30.

- Condon, F., Charles Gustus, D., Rasmusson, C., and Kevin, P. S. 2008.** Effect of advanced cycle breeding on genetic diversity in barley breeding germplasm. *Crop Science* 48: 1027-1036.
- Dahleen, L. S., Vander Wal, L. J., and Franckowiak, J. D. 2005.** Characterization and molecular mapping of genes determining semidwarfism in barley. *Journal of Heredity* 96: 654-662.
- Delaporta, S.L., Wood, J., and Hicks, J.B. 1983.** A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology* 4: 19-21.
- Dizkirici, A., Elif Guren, H., Onde, S., Ternel, F., Akar, T., Budak, H., Kaya, Z. 2008.** Microsatellite (SSR) variation in barley germplasm and its potential use for marker assisted selection in scald resistance breeding. *International Journal of Integrative Biology* 4:1-9.
- Feng, Z. Y., Liu, X. J., Zhang, Y. Z., and Ling, H. Q. 2006.** Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using SSR markers. *Acta Genetica Sinica* 33(10): 917-928.
- Franckowiak, J. 1997.** Revised linkage maps for morphological marker in barley, *Hordeum vulgare*. *Barley Genetics Newsletter* 26: 9-21.
- Hajmansoor, S., Bihanta, M. R., Nabipour, A. R., Mohammadi, A., Pirseyedi, M., and Nikkhah, H. R. 2009.** Genetic diversity in barley genotypes: I. Seed storage proteins (Hordeins) and agronomic traits. *Seed and Plant Improvement Journal* 25-1: 585-604 (in Farsi).
- Hamza, S., Hamida, W. B., Rebaï, A., and Harrabi, M. 2004.** SSR-based genetic diversity assessment among Tunisian winter barley and relationship with morphological traits. *Euphytica* 135: 107-118.
- Karakousis, A., Barr, A. R., Chalmers, K. J., Ablett, G. A., Holton, T. A., Henry, R. J., Lim, P., and Langridge, P. 2003.** Potential of SSR markers for plant breeding and variety identification in Australian barley germplasm. *Australian Journal of Agricultural Research* 54: 1197-1210.
- Karim, K., Rawda, A., and Hatem, C. 2009.** Genetic diversity in barley genetic diversity in local Tunisian barley based on RAPD and SSR analysis. *Biological Diversity and Conservation* 2/1: 27-35.
- Kjar, A., Barfod, S.A., Asmussen, C.B., and Seberg, O. 2004.** Investigation of genetic and morphological variation in the Sago palm (*Metroxylon sagu*; *Arecaceae*)

- in Papua New Guinea. *Annals of Botany* 94: 109-117.
- Kölliker, R., Jones, E. S., Drayton, M.C., Dupal, M. P., and Forster, J. W. 2001.** Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) marker for white clover (*Trifolium repens* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 102:416-424.
- Kraic, J., Gregová, E., Jomova, K., and Hudcovicová, M. 2002.** Microsatellite markers discriminating accessions within collections of genetic resources. *Cellular & Molecular Biology Letters* 7: 745-751.
- Lande, R., and Thomson, R. 1990.** Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124: 743-756.
- Lynn, D. 2006.** Genetic improvement of barley. *Agricultural Research Service* 36: 12-16.
- Malysheva-Otto, L. V., Ganal, M. W., and Röder, M. 2006.** Analysis of molecular diversity, population structure and linkage disequilibrium in a worldwide survey of cultivated barley germplasm (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Genetic* 7: 6.
- Martines, L., Cavagnaro, P., and Masuelli, R. 2003.** Evaluation of diversity among Argentin grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. *Electronic Journal of Biotechnology* 6: 0717-3458.
- Matus, I. A., and Hayes, P. M. 2002.** Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome* 45: 1095-1106.
- Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T. G., and Yano, M. 1997.** Genome mapping, molecular markers and marker assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3: 87-103.
- Nachit, M. M., Elouafi, I., Pagnotta, A., Saleh, EL., Iacono, E., Labhilili, M., Asabati, A., Azarak, M., Hazzam, H., Benscher, D., Khairallah, M., Ribault, J. M., Tanzarella, O. A., Porceddu, E., and Sorrells, M. E. 2001.** Molecular linkage maps for an intraspecific recombinant inbred population of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Theoretical and Applied Genetics* 102: 177-186.
- Pickering, R., Ruge-Wehling, B., Johnston, P. A., Schweizer, G., Ackermann, P., and Wehling, P. 2006.** The transfer of gene conferring resistance to scald (*Ryynchosporium secalis*) from *Hordeum bulbosum* into *H.vulgare* chromosome 4HS. *Plant Breeding*. 125: 576-579.
- Pillen, K., Binder, A., Kreuzkam, B., Ramsay, L., Waught, R., Förster, J., and**

- Leon, J. 2000.** Mapping new EMBL-derived barley microsatellite and their use in differentiating German barley cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 652-660.
- Plaschke, J., Ganal, M. W., and Röder, M. S. 1995.** Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 1001-1007.
- Ramsay, L., Macaulay, M., Ivanissevich, S., Maclen, K., Cardle, L., Fuller, J., Edwards, K. J., Tuveesson, S., Morgante, M., Massari, A., Maetri, E., Marmiroli, N., Sjakste, T., Ganal, M., Powell, W., and Waugh, R. 2000.** A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics* 156: 1997-2005.
- Rongwen, J., Akkaya, M. S., Bhagwat, M., Lavi, U., and Cregan, S. 1995.** The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 43-48.
- Semagn, K. 2002.** Genetic relationships among ten endod types as revealed by a combination of morphological, RAPD and AFLP markers. *Hereditas* 137: 149-156.
- Senior, M. L., Murphy, J. P., Goodman, M. M., and Stuber, C.W. 1998.** Utility of SSRS for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Science* 38: 1088-1098.
- Spencer, D., Rossnagel, B. G., Legge, W. G., Scoles, G. J., Eckstein, P. E., Penner, G. A., Tinker, N. A., Briggs, K. G., Falk, D. E., Afele, J. C., Hayes, P. M., and Mather, D. E. 1999.** Verification of a quantitative trait locus affecting agronomic traits in two-row barley. *Crop Science* 39: 248-252.
- Timothy, F., and Dustin, F. 2007.** The use of target region amplication polymorphism (TRAP) in mapping of disease resistance traits in barley. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2007 Annual Report.
- Tomas, W. T. B., Waugh, R., Ramsay, L., Russell, J. R., Powell, W., Konishi, T., Meyer, R. C., Young, G. R., Lawrence, P. E., Booth, A., Swanston, J. S., and Newton, A. C. 2002.** Molecular marker for agriculturally important traits in barley. *Genes Products* 162-164.
- Vollmann, J., Grausgruber, H., Stift, G., Dryzhyruk, V., and Lelley, T. 2005.** Genetic diversity in camelina germplasm as revealed by seed quality charectistics and RAPD polymorphism. *Plant Breeding* 124: 446-453.

Yang, G. P., Saghai Maroof, M. A., Xu, C. G., Zhang, Q. F., and Biyashev, R. M. 1994. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. *Molecular and General Genetics* 245: 187-194.