مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۵ ، شماره ۴، سال ۱۳۸۸

بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های جو: I- پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه (هوردئین) و صفات زراعی

Genetic Diversity in Barley Genotypes: I. Seed Storage Proteins (Hordeins) and Agronomic 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، 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، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج
۵- مربی، موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۷/۳۰

چکیده

حاج منصور، ش.، بی‌همتا، م. ر.، نبی‌پور، ع.، محمدی، ع.، پیرسیدی، س. م.، و نیکخواه، ح. ر. ۱۳۸۸. بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های جو: I- پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه (هوردئین) و صفات زراعی. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۵:** ۶۰۴ - ۵۸۵.

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو، ۲۲ صفت زراعی و پروتئین ذخیره‌ای در ۶۴ ژنوتیپ جو دریافت شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج مورد ارزیابی قرار گرفتند. الگوهای پلی‌پپتیدی پروتئین‌های ذخیره‌ای جو با به کارگیری روش SDS-PAGE از نظر سه هوردئین مهم (B، C و D) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج الگوهای نوارهای پلی‌پپتیدی پروتئین‌های ذخیره‌ای نشان داد که نوارهای الکتروفورز دارای دامنه بین ۳۰ تا ۱۲۰ کیلو دالتون بود و تعداد ۵۱ نوار پلی‌مورف به دست آمد. بیشترین تعداد نوار به B-Hordein با ۲۲نوار، C-Hordein با ۲۱ نوار و D-Hordein با ۸ نوار اختصاص داشت. در تجزیه خوشه‌ای با رسم دندروگرام UPGMA بر اساس فاصله اقلیدسی، صفات زراعی به شش گروه ژنوتیپی و بر اساس ضریب تشابه جاکارد نوارهای پلی‌پپتیدی به ۱۱ گروه تفکیک شدند. این موضوع بیانگر تنوع بالا در ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود. هیستوگرام رسم شده بر اساس فراوانی نوارهای پلی‌پپتیدی نشان داد که B-hordein با داشتن بیشترین فراوانی نقش ویژه‌ای در بررسی پلی‌مورفیسم دارد.

واژه‌های کلیدی: جو، صفات زراعی، تنوع ژنتیکی، پروتئین ذخیره‌ای.

نویسنده مسئول: sh_hajmansoor@yahoo.com

مقدمه

جو یکی از مهم‌ترین غلات و از اصلی‌ترین منابع تأمین غذای دام و انسان در جهان است. این گیاه در مناطقی که غلات دیگر به دلیل بارندگی کم، شوری خاک و یا ارتفاع زیاد، سرما و گرمای هوا به خوبی رشد نمی‌کنند کشت می‌شود. تقریباً یک سوم کل زمین‌های دنیا و حدود ۸۵٪ از زمین‌های ایران در ناحیه خشک قرار دارند (Badripour, 2004). مهم‌ترین کاربرد جو به عنوان غذای انسان، حیوان و تهیه مالت است. سطح زیر کشت جو در دنیا در سال ۲۰۰۶ بالغ بر ۵۶ میلیون هکتار و عملکرد آن بالغ بر۱۳۷ میلیون تن و در ایران در سال ۲۰۰۵ برابر ۱/۷ میلیون هکتار و عملکرد آن ۲/۹ میلیون تن گزارش شده است (FAO, 2006)[1].

پروتئین‌های ذخیره‌ای اصلی جو پرولامین‌ها هستند که اصطلاحاً هوردئین نامیده می‌شوند و حدود ۵۰-۳۵٪ کل نیتروژن دانه را تشکیل می‌دهند (Kirkman *et al.*, 1982). هوردئین‌ها در چهار گروه یا خانواده پلی‌پپتیدی قرار می‌گیرند که هوردئین‌های A، B، C و D نامیده می‌شوند. B-Hordein حدود ۸۰-۷۰٪، C-Hordein حدود ۲۰-۱۰٪، D-Hordein حدود ۵٪ و A–Hordein حدود ۵٪ از پرولامین‌ها را تشکیل می‌دهند، بنابراین هوردئین‌های B و C جزء پروتئین‌های ذخیره‌ای اصلی هستند و تعداد نوارهای پلی‌پپتیدی بیشتری نسبت به D-Hordein دارند (Shewry and Morell, 2001).

وزن D-Hordein بیش از ۱۰۰ کیلودالتون، C-Hordein بین ۷۲ تا ۴۸ کیلودالتون، B-Hordein بین ۴۶ تا ۳۰ کیلودالتون و A-Hordein بین ۱۶ تا ۱۰ کیلودالتون است (Shewry, 1992). هوردئین نوع A، هوردئین واقعی محسوب نمی‌شود، زیرا از نظر ساختار با بقیه هوردئین‌ها متفاوت است (Salcedo *et al.*, 1980). D-Hordein توسط لوکوس Hor3 روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۵ و هوردئین‌های A، B و C به ترتیب توسط مکان‌های ژنی Ho5، Hor3 و Hor1 که روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۵ قرار دارند، کنترل می‌شوند (Shewry *et al.*, 1990).

تعیین توالی اسیدآمینه هوردئین در مقایسه با پلی‌پپتیدهای گلوبولین و گلوتنین گندم نشان داد که با D-Hordein هم‌ساخت هستند. البته هوردئین‌ها از نظر ساختمانی با یکدیگر مرتبط هستند و احتمالاً از یک پروتئین اجدادی مشابه مشتق شده‌اند و براساس ساختمان و خواص از یکدیگر متمایز می‌شوند (Yong Qiang *et al.*, 2003).

بر اساس تحقیقات انجام شده در مورد همبستگی بین هوردئین و میزان مالت، مشخص شد که B-Hordein، دارای همبستگی مثبت و C-Hordein و D-Hordein دارای رابطه

1. http://faostat.fao.org

منفی با مقدار مالت است، بنابراین هوردئین‌ها می‌توانند به عنوان یک شاخص ارزیابی در این صنعت مورد استفاده قرار گیرند (Peltonen *et al.*, 1994). در تحقیق دیگر مشخص شد که نقشه نواری هوردئین همبستگی با کیفیت مالت استخراج شده دارد (Echart and Cavalli-Molina, 2001).

نقشهٔ نواری کل هوردئین با دارا بودن تعداد آلل زیاد به عنوان یک روش پایه برای نشان دادن اختلافات ارقام (درون گونه‌ای و بین گونه‌ای)، شناسایی ارقام جو، توارث‌پذیری و همچنین برای جدا کردن و انتخاب ژنوتیپ‌ها و یافتن مراکز تنوع در برنامه‌های ژنتیکی کاربرد دارد. ایجاد نقشه نوارهای هوردئین می‌تواند به عنوان یک شناسنامه در برنامه‌های اصلاحی ارقام به کار گرفته شود. در این تحقیق از صفات زراعی و پروتئین ذخیره‌ای هوردئین برای بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو استفاده شد.

مواد و روش‌ها

صفات موفولوژیک

بذر ۶۴ ژنوتیپ جو شامل ارقام تجارتی در حال کشت و ارقام وارداتی، از بخش تحقیقات غلات، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. این ژنوتیپ‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مهرماه ۱۳۸۳ در مزرعهٔ دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران در کرج کاشته شدند.

هر ژنوتیپ در سه خط دو متری با فاصله ۳۰ سانتی‌متر کاشته شدند. آبیاری هر دو هفته یک بار انجام شد (کرت‌های ۶ ژنوتیپ از بین رفتند). محصول از خط میانی هر کرت در خرداد ۱۳۸۴ برداشت و به آزمایشگاه منتقل شد.

در کلیه ژنوتیپ‌ها صفات مختلف زراعی مثل وزن کل گیاه خشک شده، تعداد پنجه در بوته، تعداد گره در ساقه اصلی، تعداد برگ در بوته، تعداد سنبله در بوته، طول ساقه اصلی ارتفاع گیاه، طول پدانکل (طول آخرین میانگره)، طول اکستروژن (فاصله برگ پرچم تا زیر سنبله)، طول سنبله اصلی، طول ریشک، وزن سنبله اصلی یک گیاه، وزن سنبله‌های یک گیاه، عملکرد بوته، طول محور سنبله اصلی، تعداد سنبلچه در سنبله، وزن ۱۰۰ دانه، قطر ساقه، تعداد روز تا گلدهی، تعداد روز تا رسیدن، طول دوره پرشدن دانه و شاخص برداشت یادداشت‌برداری شد.

بررسی تنوع صفات زراعی به وسیله رسم دندروگرام بر اساس فاصله اقلیدسی و روش Ward با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

پروتئین ذخیره‌ای بذر

استخراج هوردئین از بذر با استفاده از دو روش شِوری (Shewry, 1978a) و عثمان عبدالله (Osman-Abdalla, 2003) انجام شد.

الکتروفورز پروتئین‌ها با روش SDS-PAGE انجام شد و روش Osman-Abdalla (2003) به دلیل تفکیک بهتر نوارها استفاده شد. وزن مولکولی نوارهای حاصل، با

استفاده از نشانگر وزنی استاندارد (Molecular weight marker, SM0431) شرکت فرمنتاز (Fermentas) و نرم‌افزار فتوکپچر (capture Photo) به دست آمد.

فراوانی نواری هوردئین ژنوتیپ‌ها با نرم افزار Excel و شباهت پروتئینی به وسیله رسم دندروگرام بر اساس ماتریس تشابه و رویه UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-PC 2.02 انجام شد.

نتایج و بحث

نام و شجره ژنوتیپ‌های جو مورد استفاده در این بررسی در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس کلیه صفات زراعی ذکر شده انجام شد. نتایج دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها نشان داد که اگر خط برش در فاصله ۸ قرارگیرد، ۵۸ ژنوتیپ در ۶ کلاستر قرار می‌گیرند. ژنوتیپ‌های کلاستر ۶ دارای حداکثر عملکرد و ژنوتیپ‌های کلاستر ۲ دارای حداقل عملکرد بودند (شکل ۱).

کلاستر دوم دارای حداقل عملکرد و از نظر صفات طول ساقه اصلی، ارتفاع گیاه، طول پدانکل، طول اکستروژن، طول ریشک، تعداد سنبلچه در سنبله، وزن ۱۰۰ دانه، قطر ساقه، طول دوره پر شدن و شاخص برداشت در سطح حداقل و از نظر تعداد روز تا گلدهی و تعداد روز تا رسیدن در حداکثر میزان نسبت به بقیه کلاسترها قرار داشتند. کلاستر ششم دارای حداکثر عملکرد و از نظر صفات زیست توده، تعداد پنجه، تعداد گره، تعداد برگ، تعداد سنبله، طول ساقه اصلی، ارتفاع گیاه، طول ریشک، وزن سنبله اصلی، وزن سنبله‌های گیاه، طول دوره پر شدن دانه و شاخص برداشت نیز بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده بودند (جدول ۲).

بر اساس گزارش (Shannon *et al.*, 1976)، ریشک در ژنوتیپ‌های دارای ریشک کامل ۱۹٪ از سهم عملکرد را به خود اختصاص داد. در این مطالعه کلاستر دوم دارای عملکرد پایین و دارای طول ریشک کوتاه و کلاستر ششم دارای عملکرد بالا و دارای ماکزیمم طول ریشک بودند.

بررسی الگوی پروتئین‌های ذخیره‌ای

با بررسی الگوهای پلی‌پپتیدی پروتئین‌های ذخیره‌ای (به عنوان مثال نقشه نواری ژنوتیپ‌های ۱ تا ۱۱ آورده شده است) و مشخص کردن وزن آن‌ها، هر کدام از نوارها به گروه پروتئینی مربوط به خود منتسب شدند (شکل ۲ و جدول ۳). بر این اساس نتایج زیر به دست آمد:

D-Hordein : این نوع پروتئین ذخیره‌ای دارای وزنی بین ۱۲۰ تا ۹۷ کیلودالتون و تک نواری بود (Shewry and Miflin, 1982). اکثر ژنوتیپ‌ها در این محدوده تک‌نواری بودند، تعداد نوارهای این پلی‌پپتید بین ۲ تا ۱ متغیر بود ولی در ژنوتیپ‌های شماره ۷، ۱۲، ۱۳، ۱۸، ۲۲،

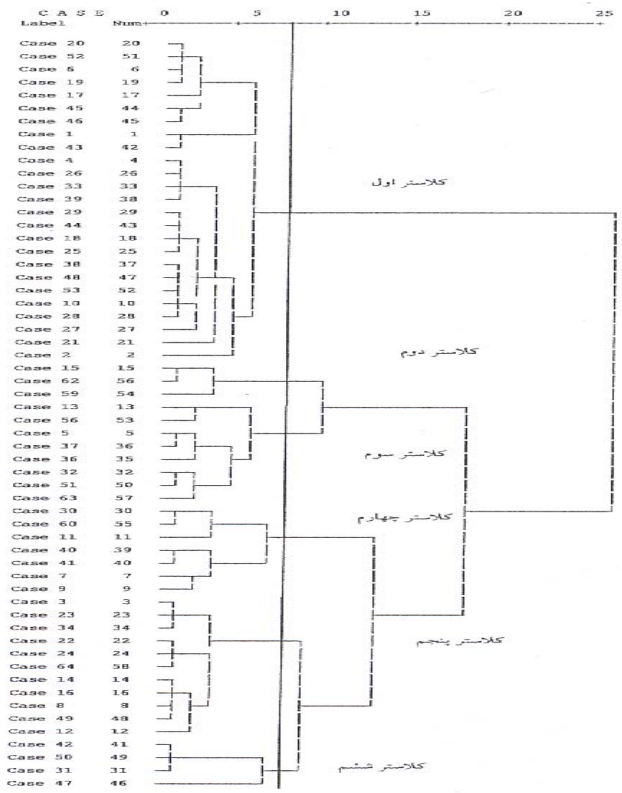
جدول ۱- شجره/نام ژنوتیپ‌های جو

Table 1. Name/pedigree of barley genotypes

Entry No.	Pedigree	Entry No.	Pedigree
1	L.527/Nk 1272//Eneldo"S"	33	Rihane//Aths/Bc
2	C.C.89/(Atem/Uni 80//Gloria"S"/Come"S")	34	Trompilo/Briggs
3	Trompilo/L.Moghan	35	LB.Iran/Una 8271//Gloria"S"/3/Kavir
4	LB.Iran/Una 8271//Gloria"S"/3/Alm/.	36	LB.Iran/Una 8271//Gloria"S"/Come"s"…
5	Cln/80-5138//Gloria/Copal/3/Sen/4/....	37	LB.Iran/Una 8271//Gloria"S"/
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 8271//Gloria/Come/3/.....	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-C4364//Wi2291/3
13	Lignee 527/Rhn//Arar	45	Comp89-9Cr-79-07)/Atem….
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/Dl70/3/Apm/5106/4/Api/…	50	Ashar/Rojo
19	Zarjow//Dmr 27/Wi 2197	51	L.131/Cerbel//Alger-Ceres/3.
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 10043-3ApxZarjow	55	J1-Japanese cultivar
24	Kavir/Badia//Robur/1245/3/Robur/Luther	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 8271//Gloria"S"/Com	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

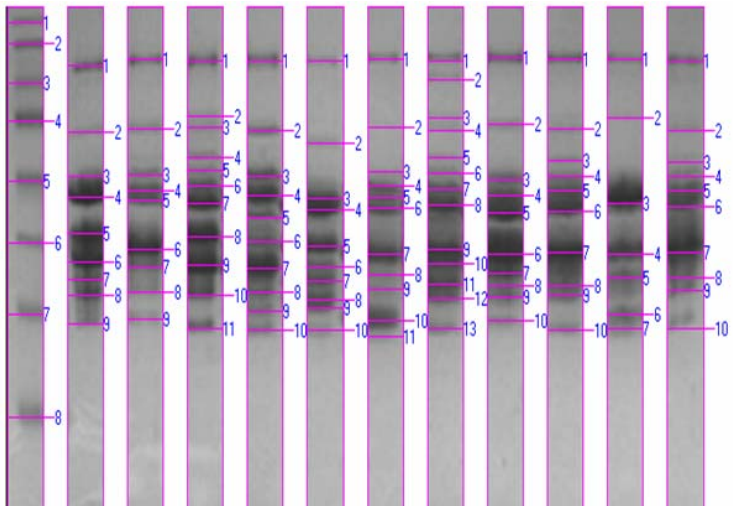
۲۹، ۳۰، ۳۲، ۳۳، ۴۱، ۴۲، ۴۵، ۴۶، ۴۷، ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۷، ۵۸، ۵۹ و ۶۱ دو نوار مشاهده شد. این هوردئین دارای حرکتی بسیار کم بود و ۸ نوار پلی‌مورف تشکیل داد.

C-Hordein : این نوع پروتئین در حدود ۲۲ کیلو دالتون سبک‌تر از D-Hordein و دارای وزنی بین ۷۵ تا ۴۷ کیلودالتون بود. تعداد نوارهای پلی‌پپتیدی ژنوتیپ‌ها در این محدوده بین ۸ تا ۲ متغیر بود و ۲۱ نوار پلی‌مورف مشاهده شد.



شکل ۱ -دندروگرام تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های جو بر اساس صفات زراعی اندازه‌گیری شده

Fig. 1. Grouping of barley genotypes using UPGMA algorithm based on agronomic traits



شکل ۲- الگوی نوار پلی‌پپتیدی ژنوتیپ‌های شماره ۱ تا ۱۱ جو با روش SDS-Page ژل الکتروفورز

Fig. 2. Polypeptides-pattern for genotypes No. 1-11

جدول ۲- میانگین صفات زراعی ژنوتیپ‌های جو در گروه‌های تجزیه کلاستر

Table 2. Mean of agronomic traits of barley genotypes in cluster analysis

Traits	صفات	کلاستر ۱(Cluster 1)	کلاستر۲(Cluster 2)	کلاستر۳(Cluster 3)	کلاستر ۴(Cluster4)	کلاستر ۵(Cluster 5)	کلاستر ۶(Cluster 6)
Biomass	بیومس	3.1688	2.9611	2.8456	3.1071	3.1832	3.4449
Number of tiller	تعداد پنجه	1.8252	1.8429	1.6527	1.9665	1.9125	2.1614
Number of node	تعداد گره	4.4280	5.0722	4.6333	4.5920	4.609	5.1916
Number of leaf	تعداد برگ	3.3652	3.4219	3.2442	3.5070	3.4611	3.7178
Number of spike	تعداد سنبله	1.5792	1.3993	1.3859	1.7624	1.5873	1.9550
Main stem length (cm)	طول ساقه اصلی	74.9827	63.2444	71.5593	67.8127	71.0313	78.1916
Plant height (cm)	ارتفاع گیاه	87.4720	78.2667	88.8833	83.5428	83.6969	89.3000
Peduncle length (cm)	طول پدانکل	29.6453	20.2000	25.7145	24/1667	24.7939	29.1000
Peduncle	طول بیرون آمدگی پدانکل	1.8625	0.8765	1.6648	1.4171	1.4572	1.7500
Main spike length (cm)	طول سنبله اصلی	7.2094	7.7444	8.5072	9.5035	8.0535	8.0833
Length of awn (cm)	طول ریشک	12.4371	10.4777	12.0322	14.1083	12.2505	12.4500
Weight of main spike (g)	وزن سنبله اصلی	3.2238	2.6425	2.4958	2.3372	3.1756	3.2718
Weight of spikes (g)	وزن سنبله‌های گیاه	3.5595	2.9012	2.8827	3.3246	3.5083	4.0246
Yield (tha^{-1})	عملکرد	3.2241	**2.6087**	2.6154	2.9313	3.2157	**3.6069**
Length of rachis (cm)	طول محور خوشه اصلی	6.7362	7.2088	8.0977	9.0240	7.5288	7.6587
Spiklet per spike	تعداد سنبلچه در سنبله	22.5751	21.2166	24.9020	28.2107	23.2590	24.8458
100 kw (g)	وزن ۱۰۰ دانه	4.4460	3.7822	4.0939	4.3843	4.1256	4.0899
Stem diameter (mm)	قطر ساقه	4.1884	3.8655	3.9757	3.8877	4.1268	4.2975
Days to flowering	تعداد روز تا گلدهی	119.8800	131.3330	123.7500	124.7100	124.5400	120.2500
Days to maturity	تعداد روز تا رسیدن	166.0400	168.3330	166.1250	167.0000	167.3600	167.0000
Days to filling	طول دوره پر شدن دانه	45.7600	36.3300	42.12500	41.7100	42.0900	46.2500
Harvast index	شاخص برداشت	0.4429	0.3609	0.4103	0.3854	0.4285	0.4550

جدول ۳- وزن مولکولی پلی‌پپتیدهای به دست آمده بر حسب کیلودالتون

Table 3. Molecular weight of polypeptites (KDa)

	MW-RF											
	M	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11
1	**170.000**	111.472	117.238	117.052	117.052	117.052	117.238	117.052	117.422	117.238	117.238	117.052
2	**130.000**	68.851	69.751	74.775	69.301	65.706	69.650	102.500	72.051	69.751	73.816	69.301
3	**100.000**	56.329	56.772	69.650	56.329	50.208	57.661	73.816	55.443	61.030	48.940	61.03
4	**72.000**	50.636	52.368	61.674	51.066	47.292	54.000	69.301	51.066	56.329	38.901	56.329
5	**55.000**	41.788	49.783	58.106	45.323	39.686	50.636	61.674	46.491	52.368	36.553	52.368
6	**40.000**	38.117	39.372	54.000	40.278	37.647	47.699	57.216	38.901	46.890	33.000	48.109
7	**33.000**	36.398	37.647	48.940	37.491	36.242	38.901	52.804	37.022	39.058	31.243	39.058
8	**24.000**	34.844	35.154	41.161	35.154	34.381	36.866	48.523	35.775	35.775	11.000	36.553
9	**17.000**	31.825	32.411	37.804	33.306	33.612	35.464	39.372	34.690	34.844	8.000	35.309
10	**11.000**	16.557	15.145	34.844	31.051	31.051	32.216	37.960	32.216	31.051		31.243
11		11.532	10.500	31.243	14.147	13.635	30.289	35.930	12.592	12.063		11.532
12				14.651	9.000	9.000	11.000	34.535	7.500	8.000		7.500
13				9.500			8.000	31.243				
14								13.116				
15								8.000				

B-Hordein : این نوع پروتئین در حدول ۱ کیلو دالتون سبک‌تر از C-Hordein و دارای وزنی بین ۴۵ تا ۳۰ کیلودالتون بود. تعداد نوارهای این پلی‌پپتید بین ۹ تا ۴ متغیر و شامل ۲۲ نوار پلی‌مورف بود.

نوع دیگر پروتئین، هوردئین نوع A بود که دارای وزنی بین ۱۷ تا ۷ کیلودالتون و تعداد نواری بین ۶ تا ۲ بود. این پروتئین فاقد ساختار پروتئینی، همانند بقیه پروتئین‌های ذخیره‌ای است و اکثر قریب به اتفاق محققین هوردئین نوع A را جزء پروتئین‌های ذخیره‌ای نمی‌دانند (Salcedo *et al*., 1980).

بر اساس تعداد نوارهای شمارش شده هر پروتئین، مشخص شد که بیشترین فراوانی مربوط به هوردئین نوع B است. این هوردئین بیشترین پلی‌مورفیسم را در بین سایر هوردئین‌ها دارا بود و هوردئین‌های C و D به ترتیب رتبه‌های بعدی را به خود اختصاص دادند. مطابق با یافته‌های شوری و میفلین (Shewry and Miflin, 1982) است.

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها

ژنوتیپ‌ها بر اساس وزن ملکولی نوارهای هوردئین‌های B، C و D به طور مجزا و همچنین بر اساس تلفیقی از کل نوارهای هوردئین گروه‌بندی شدند که نتایج حاصل به شرح زیر بود:

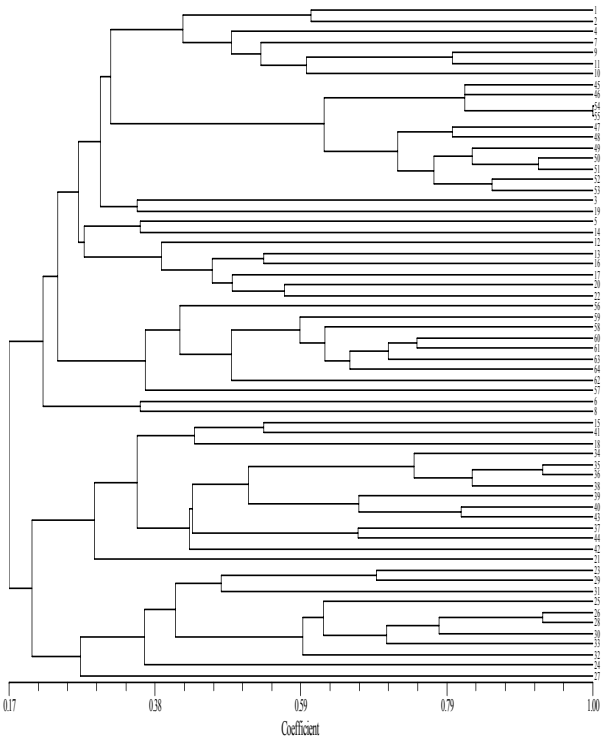
دندروگرام بر اساس هوردئین B با رسم خط در فاصله ۰/۳۹، ۶۴ ژنوتیپ در ۹ کلاستر قرار گرفتند و ژنوتیپ‌های شماره ۵۶ تا ۶۴ (ژنوتیپ‌های ژاپنی) در کلاستر ۲ قرار گرفتند. دندروگرام بر اساس هوردئین C با ترسیم خط برش در فاصله ۰/۲۳، ژنوتیپ‌ها در ۶ کلاستر قرار گرفتند و ژنوتیپ‌های ۵۶ تا ۶۴ در کلاستر ۶ قرار گرفتند. و نهایتا" در دندروگرام بر اساس هوردئین D با قرار گرفتن خط برش در فاصله ۰/۴۱، ۶۴ ژنوتیپ در ۴ کلاستر قرار گرفتند.

دندروگرام براساس میزان شباهت کل هوردئین‌ها

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس وزن نوارهای پلی‌پپتیدی هر سه نوع هوردئین انجام شد و نتایج دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس ضریب تشابه جاکارد نشان داد که اگر خط برش در فاصله ۰/۳۶ قرار گیرد ۶۴ ژنوتیپ در ۱۵ کلاستر قرار می‌گیرند به طوری که ۹ ژنوتیپ ژاپنی در گروه ۸ قرار گرفتند (شکل ۳).

در نهایت با ترسیم دندروگرام بر اساس ضریب تشابه جاکارد، میزان شباهت ژنوتیپ‌ها مشخص شد. به عنوان مثال، بر اساس شکل ۳، دو ژنوتیپ با شماره‌های ۲۶ و ۲۸ دارای ۹۱٪ شباهت و دو ژنوتیپ ۶۰ و ۶۱، ۷۴٪ به هم شبیه بودند.

تشابه دو ژنوتیپ شماره ۵۴ و ۵۵، ۱۰۰٪ تعیین شد که می‌تواند نماینده آن باشد که دو ژنوتیپ مورد بحث در واقع با هم یکی هستند. البته در آزمایش حاضر، علت این امر را باید در تعداد کم نشانگرهای پروتئین و ضعف آن‌ها در



شکل ۳- دندروگرام میزان شباهت کل هوردئین (بر اساس وزن مولکولی)
Fig. 3. Grouping of barley genotypes based on total-Hordein similarity

تفکیک تعداد ژنوتیپ‌ها نیز جستجو کرد.

رابطه صفات زراعی با نوارهای پلی‌پپتیدی

در محاسبه همبستگی مشخص شد که تعدادی از صفات زراعی با برخی نوارهای پلی‌پپتیدی رابطه نشان دادند. در این بین نوار C_{17} (نوار هفدهم C-Hordein) بیشترین همبستگی مثبت را با صفت طول ریشک به میزان ۰/۴۷ داشت (جدول ۴).

محاسبه فراوانی وزن نوارهای به دست آمده

B-Hordein : در ژنوتیپ‌های ۱ تا ۵۴، کمترین فراوانی نواری مربوط به وزن ۳۰ کیلو دالتون و بیشترین فراوانی مربوط به وزن ۴۲ کیلودالتون بود و در ارقام ژاپنی کمترین فراوانی مربوط به نوارهای ۳۰، ۳۱، ۳۲/۵، ۳۳/۵، ۳۴/۵، ۳۸/۵، ۴۰، ۴۲، ۴۲/۵، ۴۳، ۴۴ و ۴۴/۵ و بیشترین فراوانی در نوارهای ۳۶، ۳۸ و ۳۹ کیلودالتون مشاهده شد. در مقایسه فراوانی نواری بین این دو گروه، نوار ۴۲ کیلو دالتون دارای بیشترین فراوانی بین ژنوتیپ‌های ۱ تا ۵۴ بود و ژنوتیپ‌های ژاپنی فاقد این نوار بودند (جدول ۵).

C-Hordein: در ژنوتیپ‌های ۱ تا ۵۴، کمترین فراوانی نواری مربوط به وزن ۵۹ کیلو دالتون و بیشترین فراوانی مربوط به وزن

جدول ۴- همبستگی پروتئین ذخیره‌ای با صفات زراعی جو

Table 4. Correlation among storage protein content and agronomic traits of barley

Pearson Correlation	وزن نوار Weight of band (KD)	نوار پروتئین Band of protein	Character	صفت
-0.354**	34	B16	Biomass	بیومس
0.297*	64	C8	Biomass	بیومس
0.434**	57	C13	Biomass	بیومس
0.259*	48	C20	Biomass	بیومس
0.372**	117	D2	Biomass	بیومس
-0.305*	34	B16	Number of tiller	تعداد پنجه
-0.319*	50	C18	Number of tiller	تعداد پنجه
0.305	97	D8	Number of tiller	تعداد پنجه
0.428**	97	D8	Number of node	تعداد گره
-0.264*	34	B16	Number of leaf	تعداد برگ
-0.271*	50	C18	Number of node	تعداد برگ
0.266*	97	D8	Number of node	تعداد برگ
-0.273*	32	B20	Number of spike	تعداد سنبله
-0.303*	34	B16	Number of spike	تعداد سنبله
0.264*	64	C8	Number of spike	تعداد سنبله
0.380**	57	C13	Number of spike	تعداد سنبله
-0.301*	50	C18	Number of spike	تعداد سنبله
0.335*	97	D8	Number of spike	تعداد سنبله
0.277*	117	D2	Number of spike	تعداد سنبله
-0.264*	34	B16	Main stem length	طول ساقه اصلی
-0.264*	47	C21	Main stem length	طول ساقه اصلی
-0.320*	116	D3	Main stem length	طول ساقه اصلی
0.295*	64	C8	Height of plant	ارتفاع گیاه
-0.312*	47	C21	Height of plant	ارتفاع گیاه
0.275*	101	D7	Height of plant	ارتفاع گیاه
-0.356**	116	D3	Height of plant	ارتفاع گیاه
0.302*	38	B11	Height of plant	پدانکل
-0.350**	34	B16	Height of plant	پدانکل
-0.409**	47	C21	Height of plant	پدانکل
-0.314*	34	B16	Upflag	طول اکستروژن
-0.376**	47	C21	Upflag	طول اکستروژن
0.284*	44.5	B2	Length of main spike	طول سنبله اصلی
0.297*	59	C12	Length of main spike	طول سنبله اصلی
0.439**	44.5	B2	Length of awn	طول ریشک
0.317*	41	B7	Length of awn	طول ریشک
0.362**	69	C4	Length of awn	طول ریشک
0.382**	66	C6	Length of awn	طول ریشک
0.428**	59	C12	Length of awn	طول ریشک
0.470**	51	C17	Length of awn	طول ریشک

ادامه جدول ۴

Table 4. Continued

Pearson Correlation	وزن نوار Weight of band (KD)	نوار پروتئین Band of protein	Character	صفت
0.332*	48	C20	Length of awn	طول ریشک
-0.297*	120	D1	Length of awn	طول ریشک
-0.266*	34	B16	Weight of main spike	وزن سنبله اصلی
-0.431**	34	B16	Weight of spikes	وزن سنبله‌های فرعی
0.288*	65	C7	Weight of spikes	وزن سنبله‌های فرعی
0.278*	64	C8	Weight of spikes	وزن سنبله‌های فرعی
0.447**	57	C13	Weight of spikes	وزن سنبله‌های فرعی
0.366**	117	D2	Weight of spikes	وزن سنبله‌های فرعی
-0.452**	34	B16	Yield	عملکرد
0.341**	65	C7	Yield	عملکرد
0.393**	57	C13	Yield	عملکرد
0.303*	117	D2	Yield	عملکرد
0.306*	59	C12	Rachis length	طول محور سنبله اصلی
0.277*	44.5	B2	Number spiklet per spike	تعداد سنبلچه در سنبله
-0.352**	42.5	B5	Number spiklet per spike	تعداد سنبلچه در سنبله
0.261*	40	B8	Number spiklet per spike	تعداد سنبلچه در سنبله
0.378**	59	C12	Number spiklet per spike	تعداد سنبلچه در سنبله
0.260*	51	C17	Number spiklet per spike	تعداد سنبلچه در سنبله
-0.280*	120	D1	Number spiklet per spike	تعداد سنبلچه در سنبله
0.275*	44.5	B2	Weight of 100 seed	وزن ۱۰۰ دانه
0.369**	34	B16	Days to flowering	تعداد روز تا گلدهی
0.421**	47	C21	Days to flowering	تعداد روز تا گلدهی
0.270*	54	C15	Days to maturity	تعداد روز تا رسیدن
-0.384**	34	B16	Days to filling	طول دوره پر شدن دانه
-0.392**	47	C21	Days to filling	طول دوره پر شدن دانه
-0.389**	34	B16	Harvest index	شاخص برداشت
0.299*	33.5	B17	Harvest index	شاخص برداشت
-0.324*	72	C3	Harvest index	شاخص برداشت
0.273*	68	C5	Harvest index	شاخص برداشت
0.457**	65	C7	Harvest index	شاخص برداشت
-0.268*	54	C15	Harvest index	شاخص برداشت
-0.264*	51	C17	Harvest index	شاخص برداشت
0.303*	49	C19	Harvest index	شاخص برداشت
-0.333*	47	C21	Harvest index	شاخص برداشت
0.392**	97	D8	Harvest index	شاخص برداشت

جدول ۵- فراوانی نوارهای پروتئین ذخیره‌ای

Table 5. Frequency storage protein bands of barley

Frequency (B-Hordein) فراوانی			Frequency (C-Hordein) فراوانی			Frequency (D-Hordein) فراوانی		
ژنوتیپ‌های ۵۵-۶۴ Gentype 55-64	ژنوتیپ‌های ۱-۵۴ Gentypes 1-54	وزن نوار(کیلودالتون) Molecular-Weight	ژنوتیپ‌های ۵۵-۶۴ Gentypes 55-64	ژنوتیپ‌های ۱-۵۴ Gentypes 1-54	وزن نوار(کیلودالتون) Molecular-Weight	ژنوتیپ‌های ۵۵-۶۴ Gentypes 55-64	ژنوتیپ‌های ۱-۵۴ Gentypes 1-54	وزن نوار(کیلودالتون) Molecular-Weight
0	0.01	30	0	0.40	47	0.2	0.03	97
0	0.11	31	0	0.20	48	0	0.01	101
0.5	0.16	32	0.9	0.27	49	0	0.09	104
0	0.26	32.5	0	0.20	50	0.3	0.20	106
0.6	0.26	33	0	0.64	51	0	0.31	111
0	0.51	33.5	0	0.18	52	0.9	0.62	116
0.3	0.51	34	0.4	0.61	54	0	0.01	117
0	0.20	34.5	0	0.14	56	0	0.03	120
0.1	0.29	35	0.1	0.38	57			
0.9	0.57	36	0.4	0.03	59			
0.6	0.48	37	0	0.12	61			
0.9	0.65	38	0	0.14	62			
0	0.13	38.5	0	0.05	63			
0.9	0.55	39	0	0.25	64			
0	0.22	40	0.6	0.12	65			
0.8	0.07	41	0	0.16	66			
0	0.68	42	0	0.05	68			
0	0.03	42.5	0.3	0.11	69			
0	0.18	43	0	0.12	72			
0	0.20	44	0	0.16	73			
0	0.03	44.5	0.4	0	75			
0.1	0.22	45						

۵۶ کیلودالتون بود و در ارقام ژاپنی کمترین فراوانی مربوط به نوارهای ۴۷، ۴۸، ۵۰، ۵۱، ۵۲، ۵۶، ۶۱، ۶۲، ۶۳، ۶۴، ۶۶، ۶۸، ۷۲ و ۷۳ و بیشترین فراوانی در نوار ۶۵ کیلودالتون مشاهده شد. در مقایسه فراوانی نواری بین این دو گروه نوار ۵۱ کیلو دالتون دارای بیشترین فراوانی بین ژنوتیپ‌های شماره ۱ تا ۵۴ بود و ژنوتیپ‌های ژاپنی فاقد این نوار بودند (جدول۵).

D-Hordein: در ژنوتیپ‌های شماره ۱ تا ۵۴، کمترین فراوانی نواری مربوط به وزن ۱۰۱ و ۱۱۷ کیلودالتون و بیشترین فراوانی مربوط به وزن ۱۱۶ کیلودالتون بود و در ارقام ژاپنی کمترین فراوانی مربوط به نوارهای ۱۰۱، ۱۰۴، ۱۱۱، ۱۱۷ و ۱۲۰بیشترین فراوانی در نوار ۱۱۶ کیلودالتون مشاهده گردید. در مقایسه فراوانی نواری بین این دو گروه در نوار ۱۱۶ کیلودالتون دارای بیشترین فراوانی بودند (جدول۵).

امروزه به میزان تنوع ژنتیکی در بررسی‌های مرتبط با ژرم پلاسم توجه زیادی می‌شود و ارتباطات ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها برای استفاده و نگهداری موثر از منابع ژرم پلاسم بسیار با اهمیت است (Russel *et al.*, 1997؛ Manjunatha *et al.*, 2006؛

Davila *et al.*, 1998). در زمینهٔ اصلاح گیاهان، این اطلاعات در انتخاب تلاقی‌های بین والدین اهمیت زیادی دارد و موجب به حداکثر رساندن کارایی انتخاب و نگهداری تنوع ژنتیکی می‌شود. اطلاعات در زمینهٔ میزان تنوع ژنتیکی و مکان عوامل موثر ژنتیک در تنوع می‌تواند برای نگهداری ژرم پلاسم و تحقیقات مرتبط با کشف ژن‌ها مفید باشد (Wilson, 1997؛ Sorrels and Jana, 1999؛ Hou *et al.*, 2005).

بررسی در زمینهٔ تنوع ژنتیکی در جو، برای برنامه‌های اصلاحی در جو و نگهداری منابع ژنتیکی به ویژه به عنوان یک راهنمای عمومی در انتخاب والدین برای اصلاح هیبریدها بسیار مهم است. بررسی و ارزیابی تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم جو برای به وجود آوردن الگوی توزیع جغرافیایی ژن‌های دخیل در صفات مورفولوژیک به منظور استفاده در انتخاب در برنامه‌های اصلاحی بر اساس صفات اگرومورفولوژی امکان پذیر می‌شود (Zaheer *et al.*, 2008).

بر اساس مطالعات زهیر و همکاران (۲۰۰۸) سطوح بالایی از تنوع ژنتیکی برای ۱۲ صفت مورفولوژیک در ۱۳۳ نمونه جو مورد بررسی مشاهده شد. این صفات برای ایجاد ارقام گیاهی جدید بر اساس مناطق جغرافیایی مختلف می‌توانند کارایی بالایی داشته باشند و در هفت کلاستر براساس توزیع جغرافیای و واریانس صفات طبقه بندی شدند. در تحقیقی دیگر ۲۱۸ ژنوتیپ بر اساس خصوصیات مورفولوژیک به ۲ زیر گونه و ۴ کولتیوار طبقه بندی شدند (Luckyanova *et al.*, 1990).

چند شکلی در پروتئین ذخیره‌ای در محصولات زراعی و وحشی از جمله نخود (Thompson and Schroed 1978)، سویا (Mori *et al.*, 1981)، ذرت (Wilson 1985) و گندم (Vallega and Waines, 1987) قبلاً گزارش شده است. پلی‌مورفیسم بالایی در پلی‌پپتیدهای هوردئین جو اولین بار در سال ۱۹۷۷ گزارش شد (McCausland and Wrigley, 1977؛ Marchylo and Laberge, 1987؛ Shewry *et al.*, 1978b). در این تحقیق نیز تنوع آللی در هوردئین مشاهده شد و الگوی نواری متفاوتی از این ژنوتیپ‌ها به دست آمد، همچنین پروتئین ذخیره‌ای سطح پلی‌مورفیسم بسیار بالاتری را نسبت به صفات زراعی نشان داد. هوردئین‌ها مولتی ژن هستند و فرایند تولید آن‌ها توسط چندین ژن کنترل می‌شود از این رو بسیار اختصاصی عمل می‌کنند. گروه‌های مولتی‌ژن تولید کننده هوردئین‌ها در اثر مضاعف شدن و متفاوت شدن از ژن های اجدادی، در اثر جایگزینی و افتادگی نوکلوتید ها به وجود آمده‌اند. این دو نوع موتاسیون باعث ایجاد تعداد متفاوتی از توالی‌های تکراری در داخل ژن‌های تاثیر گذار شده‌اند (Shewry, 1995؛ Gepts, 1990). این گروه‌های مولتی ژنی باعث ایجاد پلی‌مورفیسم

بیشتر در پروتئین‌های ذخیره‌ای شده‌اند. اعتقاد بر این است که تنوع ژنتیکی بالا در هوردئین نشان دهنده این واقعیت است که هوردئین مقاومت بالایی نسبت به موتاسیون و انتخاب طبیعی از خود نشان داده است (Nevo *et al*., 1983). هر چند که تفاوت‌های موجود در مکان‌های ژنی به صورت انتخاب طبیعی است اما تفاوت‌های موجود در مکان‌های ژنی پیوسته هدفی برای انتخاب طبیعی است. پیوستگی لوکوس هوردئین با لوکوس ژن مقاومت به سفیدک پودری (*Ml*a)، (Oram *et al*., 1975) یک احتمال برای ایجاد تنوع در هوردئین است. به دلیل پیوستگی این ژن‌ها با یکدیگر و انتقال ژن مقاومت از توده‌های غیربومی تغییرات سریع و گسترده‌ای در الگوهای پلی‌پپتیدی هوردئین در ارقام تجاری شده‌است (Shewry *et al*., 1976).

نتایج به دست آمده از این تحقیق بیانگر پلی‌مورفیسم بسیار زیاد، بین ارقام مورد آزمایش بود. آنالیز بذر ارقام مختلف، بیانگر الگوهای متفاوتی در نوارهای هوردئین در الکتروفورز بود. نتایج به دست آمده مشابه با نتایج به دست آمده توسط (Heisel *et al*., 1986) است که ۳۴ الگوی متفاوت هوردئین برای ۱۵ رقم جو در امریکا گزارش کردند.

در آزمایش‌های مزرعه‌ای بررسی صفات زراعی در راستای بررسی تنوع بسیار سودمند بود. گیاهانی که از نظر صفات زراعی یکسان بودند از نظر نوارهای پروتئینی هتروژن بودند که نتاج به دست آمده در این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط سایر محققین یکسان بود (Shewry *et al*., 1978b؛ Roininen *et al*., 1992؛ Shewry *et al*., 1980؛ Smith and Simpson, 1983). در بررسی دندروگرام میزان شباهت کل هوردئین بر اساس میزان شباهت ۳۶٪ مشخص شد که ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۵، ۶، ۸، ۱۴، ۱۹، ۲۱ و ۲۷ در کلاسترهای مجزایی قرار گرفته‌اند و با بررسی شجره ژنوتیپ‌های مذکور مشخص شد اکثر ژنوتیپ‌های ذکر شده در مقایسه با بقیه ژنوتیپ‌ها والد مشترکی ندارند و احتمالاً والدهایشان از نظر توزیع جغرافیایی نیز با هم متفاوتند.

تعدادی از ژنوتیپ‌ها نیز با وجود این که والدهای مشترکی نداشتند شباهت بیشتری نشان دادند (۳۶٪ به بالا) که احتمالا به علت قرابت بیشتر والدهای استفاده شده در برنامه به‌نژادی است. از طرف دیگر ژنوتیپ‌های شماره ۵۱ و ۵۲ دارای ۸۵٪ شباهت و دارای والدین مشترک بودند و ژنوتیپ های شماره ۳۵، ۳۶ و ۳۷ شباهت ۷۲٪ را نشان دادند که با بررسی شجره مشاهده گردید دارای والدهای مشترک هستند، بنابراین دندروگرام‌های ترسیم شده بر اساس صفات مورفولوژیک و هوردئین، بیانگر تنوع و خصوصیات هر گروه است و کمک بسیار سودمندی برای به‌نژادگر در جهت شناخت ژرم پلاسم و انتخاب والدین مناسب در راستای برنامه‌های به‌نژادی است.

تعـدادی از صـفات زراعـی بـا نـوارهـای پلی‌پپتیدی رابطه نشان دادند بنابراین نوارهای به دست آمده می‌توانند به عنوان مـارکر اطلاعـاتی (Informative Markers)) در برنامـــه‌هـــای به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند. در ایـن راسـتا نـوار C_{17} در ژنوتیـپ‌هـایی کـه دارای بیـشترین طـول ریـشک بودنـد مـشاهده شـد. البتـه میـزان همبستگی مشاهده شـده نـسبتاً کـم بـود. بررسـی ۵۱ واریتـه جـو اتیوپیـایی بـا اسـتفاده از صـفات مورفولـوژیکی، آیـزوزایم‌هـا، پلـی‌مورفیـسم هوردئین و مارکرهای RFLP، نیز نـشان داد کـه همبـستگی بـین نـوارهـای پروتئینـی و صـفات مورفولوژیک بسیار کم است. هم‌چنین، تجزیـه خوشـه‌ای نـشان داد کـه طبقـه بنـدی بـر اسـاس صفات مورفولوژیکی و زراعی از طبقه بندی بـر اساس صفات بیوشـیمیایی بـسیار متفـاوت اسـت (BjØrnstad *et al*., 1997). در تحقیقـی دیگـر با استفاده از آنالیز چند متغیره مـشخص شـد کـه ارتباط بین صـفات مورفولوژیـک و بیوشـیمیایی بسیار کم است (Ruizl *et al*., 1997).

از کاربردهای دیگر مارکرهـای بیوشـیمیایی، محاسـبه فراوانـی پلـی‌پپتیـدهای بـه دسـت آمـده است. فراونی وزنی پلـی‌پپتیـدها بـه عنـوان یـک شاخص در بررسـی تنـوع و مکـان جغرافیـایی و مبداء ژنوتیپ‌ها کاربرد دارد. ژنوتیپ‌های ژاپنـی دارای بعضی از وزن‌های آللی بودنـد کـه در ۵۴ ژنوتیپ اول دیده نشد (جـدول ۵). در وزن‌هـای ۱۱۶، ۳۹، ۳۸ و ۳۶ کیلـودالتـون ژنوتیـپ‌هـای شماره ۱ تا ۵۴ و هـم چنـین ژنوتیـپ‌هـای ژاپنـی دارای فراوانی بالایی بودند و احتمالاً این نوارهـا مربـوط بـه ژن‌هـای اجـدادی هـوردئین هـستند کـه در طبیعـت کمتـر تحـت تـاثیر انتخـاب قـرار گرفتـه‌انـد و یـا پیوسـتگی بـا ژن‌هـای مقاومـت بـه بیمـاری نداشـته‌انـد. در تحقیقـی کـــه بـــر روی ۳۵ نمونـــه جـــو از ICARDA (International Center for Agricultural Research in Dry)، ۹ نمونـــــه از GIS (Genetic Institute of Sofia) و ۵ نمونه TAAM (Timiriazev Agricultural Academy of Moscow) انجام شـد فراوانـی پلی‌پپتیدی هوردئین محاسبه و مشخص شـد کـه فراوانی بعـضی از پلـی پپتیـدها اختـصاصی یـک منطقـه اسـت و بـر ایـن اسـاس از یکـدیگر جـدا شـدند (Atanassov *et al.*, 2001). بنـابراین می‌توان از این روش رابطه بین والدین، لاین‌ها و هیبریـدهـای درون گونـه‌ای و بـین گونـه‌ای و همچنین مراکز تنوع را به دست آورد.

References

Atanassov, P., Bories, C., Zaharieva, M., and Monneveux, P. 2001. Hordein polymorphism and variation of agromorphological traits in a collection of naked barley. Genetic Research 48: 353-360.

Badripour, H. 2004. Islamic Republic of Iran. Country Pasture/Forage Resource Profiles. Rangeland Management Expert in the Technical Bureau of Rangeland –

Forest, Rangeland and Watershed Management Oraganization (FRWO) – Ministry of Jihad-e-Agriculture, Tehran, Iran (in Farsi).

BjØrnstad, A., Demissie, A., Kilian, A., and Kleinhofs, A. 1997. The distinctness and diversity of Ethioopian barleys. Theoretical and Applied Genetics 94: 514-521.

Davila, J. A., Hoz, M. P. S., Loarce, Y., and Ferrer, E. 1998. The use of random amplified microsatellite polymorphic DNA and coefficients of parentage to determine genetic relationships in barley. Genome 41: 477-486.

Echart, C., and Cavalli-Molina, S. 2001. Hordein polypeptide in relation to malting quality in Brazilian barley varieties. Pesq. Agropec. Bras., Brasilia 36 (2): 211-217.

Gepts, P. 1990. Genetic diversity of seed storage protein in plants. pp. 64-82. In: Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L,. and Weir, B. S., (eds.). Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Rrsources Sinauer Associates Inc., Massachusetts.

Heisel, S. E., Peterson, D. M., and Jones, B. L. 1986. Identification of United States barley cultivars by sodium dodecyl sualphate polyacrylamide gel electrophoresis of hordeins. Cereal Chemistry 63: 500-505.

Hou, Y. C., Yan, Z. H., Wei, Y. M., and Zheng, Y. L. 2005. Genetic diversity in barley from West China. Barley Genetics Newsletter. 35: 9-22.

Jana, S. 1999. Some recent issues on the conservation of crop genetic resources in developing countries. Genome 44: 562-569.

Kirkman, M.A., Shewry. P. R., and Miflin, B. J. 1982. The effect of nitrogen nutrition on the lysine content and protein composition of barley seeds. Journal of Science and Food Agriculture 33: 115-27.

Lukyanova, M. V., Trofimovskaya, A. Ya., Gudkova, G. N., Terentyeva, I. A., and Yarosh, N. P. 1990. Flora of Cultivated Plants. Vol.2, Part 2, Barley[in Russian]. Leningrad **Macpherson, G. H., and Grando, S. 2002.** Food Barley Improvement Other Field Food Crops. Activities. In collaboration with ICARDA.

, Agropromized. 491 pp.

Manjunatha, T., Bisht, I. S., Bhat, K. V., and Singh, B. P. 2006. Genetin diversity in barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces from Uttaranchal. Genetic Resources and Crop Evolution. 54: 55-65.

Marchylo, B. A., and Laberge, D. E. 1981. Barley cultivar identification by electrophoretic analysis of hordein protein. П. Catalogue of electrophoregeram

formulae for Canadian-grown barley cultivars. Canadian Journal of Plant Science 61:859-870.

McCausland, J., and Wrigley, C. W. 1977. Identification of Australian barley cultivars by laboratory methods: gel electrophoresis and gel isoelectric focusing of the endosperm proteins. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry 17: 1020-1027.

Mori, T., Utsumi, S., Inaba, H., Kitamura, K., and Harada, K. 1981. Differences in subunit composition of glycinin among soybean cultivars. Journal of Agricultural Food Chemistry 29: 20-23.

Nevo, E., Beiles, A., Storch, N., Doll, H., and Anderson, B. 1983. Microgeographic edaphic differentiation in hordein polymorphisms of wild barley. Theoretical and Applied Genetics 64: 123-132.

Oram, R. N., Doll, H., and Kfie, B. 1975. Genetics of two storage protein variants in barley. Hereditas 80: 53-58.

Osman-Abdalla, M. 2003. Barley and malt proteins and proteinases: I. Highly degradable barley protein fraction (HDBPF), a suitable substrate for malt endoprotease assay. The Institute and Guide of Brewing 109(2): 135-141.

Peltonen, J., Hannu, R., Reino, A., and Silja, H. 1994. Hordein and malting quality in northern barleys. Hereditas, 120: 231239.

Roininen, J., Nissilä, E., Puolimatka, M., and Pulli, S. 1992. Identification of barley cultivars using SDS-PAGE electrophoresis. Agricultural Science of Finland 1: 73-81.

Ruizl, M., Varelal, F., and Carrillo, J. M. 1997. Analysis of the discriminating power of agro/morphological and biochemical descriptors in a sample of the Spanish collection of barley. Springer Netherlands 44 (3): 247-255.

Russel, J. R., Fuller, J. D., Macaulay, M., Hatz, B. G., Jahoor, A., Powell, W.. and Waugh, R. 1997. Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLP, AFLPs, SSRs and RAPDs. Theoretical and Applied Genetics 95: 714-722.

Salcedo, G., Sanchez-Monge, R., Argamenteria, A., and Argaoncillo, C. 1980. The A-hordeins as a group of salt-soluble hydrophobic proteins. Sci. Lett. 19: 109-119. P1.

Shannon, J. G., and Reid, D. A. 1976. Awned vs. awnless isogenic winter barley

grown at three environments. Crop Science 16: 347-349.

Shewry, P. P., and Morell., M. 2001. Manipulating cereal endosperm structure, development and composition to improve end-use properties. Advanced Botanical Research 34: 165-236.

Shewry, P. R. 1992. Barley:genetics,biochemistry,molecular biology and biotechnology. pp. 280-281. In: C.A.B. Biotechnology in Agriculture No.5. UK.

Shewry, P. R. 1995. Plant storage proteins. Biological Review 70: 375-426.

Shewry, P. R., Faulks, A. J., Parmar, S., and Miflin, B. J. 1980. Hordein polypeptide pattern in relation to malting quality and varietal identification of malted barley grain. J. Inst. Brew. 86: 138-141.

Shewry, P. R., Hill, J. M., Pratt, H. M., Leggatt, M. M., and Miflin, B . J. 1978a. An evalution of techniques for the extraction of hordein and glutelin from barley seed and a comparison of the protein composition of bBomi and Ris 1508. Journal of Experimental Botany 29: 677-692.

Shewry, P. R., and Miflin, B. J. 1982. Genes for the storage proteins of barley. Qualitas Plantarum. Plant Foods Hum. Nutr. 31: 251-267.

Shewry, P. R., Parmer, S., Franklin, J., and Burgess, S. R. 1990. Analysis of a race recombination event within the multigenic *Hor* 2 locus of barley (*Hordeum vulgare* L.). Genetics Research (Cambridge) 55:171-176.

Shewry, P. R., Pratt, H. M., Faulks, A. J., Parmar, S., and Miflin, B. J. 1976. The storage protein (hordein) polypeptide pattern of barley (Hordeum vulgare L.) in relation to varietal identification and disease resistance. Journal of National Institute of Agricultural Botany 15: 34-50.

Shewry, P. R., Pratt, H. M., and Mifilin, B. J. 1978b. Varietal identification of single seeds of barley by analysis of hordein polypeptides. Journal of Science and Food Agriculture 29: 587-576.

Smith, D. B., and Simpson, P. A. 1983. Relationship of barley proteins soluble in sodium dodecyl sulphate to malting quality and varietal identification. Journal of Cereal Science 1: 185-197.

Sorrels, M. E., and Wilson, W. A. 1997. Direct classification and selection of superior alleles for crop improvement. Crop Science 37: 691-697.

Thompson, J. A., and Schroeder, H. E. 1978. Cotyledonary storage protein in

Pisum sativum. II. Heredity variation in components of the legumin and vicilin fractions. Australian Journal of Plant physiology 5: 281-294.

Vallege, V., and Waines, J.G. 1987. High molecular weight glutenin subunit variation in Triticum turgidum var. dicoccum. Theoretical and Applied Genetics 75: 706-710.

Wilson, C. M. 1985. Mapping of zein polypeptides after isoelectric focusing on agarose gels. Biochemistry Genetics 23: 115-124.

Wrigley, G. W., Austran, J. C., and Bushuk, W. 1982. Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of grain proteins. pp. 211. In: Pomerans, Y. (ed.) Advances in Cereal Science and Technology Vol. V. American Association of Cereal

Yong, Q. G., Anderson, O. D., Londeore, C. F., Kong, X., Chibbar, R. N., and Gerad R. L. 2003. Structural organization of the barley D-Hordein locus in comparison with its orthologous regions of wheat genomes. Genome. 46: 1084-1097.

Zaheer, A., Ajmal, S. U., Munir, M., Zubair, M., and Masood, M. S. 2008. Genetic diversity for morpho-genetic traits in barley germplasm. Pakistan Journal of Botany 40: 1217-1224.