

تجزیه ساختار و تنوع ژنتیکی ارقام جو با استفاده از نشانگرهای اس.ان.پی

رضا عطایی^{۱*}، مجید غلامحسینی^۲ و حسین احمدی^۳

۱ و ۲، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۶/۱۴)

چکیده

جو یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده غلات است و از نظر اهمیت اقتصادی در مقام چهارم جهان قرار گرفته است. وجود تنوع ژنتیکی پایه برنامه‌های اصلاحی است و برای بهبود گیاهان زراعی ضروری است. نشانگرهای اس.ان.پی به دلیل فراوانی زیاد در ژنوم یکی از بهترین نشانگرها برای بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت است. در این بررسی ۱۰۰ رقم جو پاییزه با استفاده از ۳۹۶۴ نشانگر اس.ان.پی با MAF بیشتر از ۱۰ درصد ارزیابی شد. دامنه شاخص PIC در کل جمعیت از ۰/۱۹ تا ۰/۵ با میانگین ۰/۳۹ بود. میزان این شاخص برای اغلب نشانگرها (۳۳۵۲ نشانگر) بیشتر از ۰/۲۵ بود. میانگین شاخص PIC روی کروموزوم‌های مختلف از ۰/۳۷ (کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵) تا ۰/۴۲ (کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷) متغیر بود. بیشترین میزان شاخص‌های تنوع ژنتیکی (شاخص نی و شاخص اطلاعات شانون) مربوط به کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷ بود. تعیین ساختار جمعیت نشان داد، ژنوتیپ‌ها بر پایه نشانگرهای مورد استفاده در دو زیرگروه قرار می‌گیرند که با مورفولوژی دو ردیفه یا شش ردیفه بودن سنبله هماهنگی داشت. تجزیه واریانس مولکولی و تعیین شاخص Fst در نواحی از ژنوم که باعث تمایز دو زیرجمعیت شده‌اند، نشان داد این مناطق ژنومی با ژن‌های کنترل‌کننده مورفولوژی سنبله هم‌مکان هستند. تنوع ژنتیکی در زیرجمعیت اول (ارقام دوردیفه) کمتر از زیرجمعیت دوم (ارقام شش ردیفه) بود. میانگین عدم تعادل پیوستگی (لینکاژی) با افزایش فاصله ژنتیکی کاهش یافت و درون زیرگروه‌ها بیشتر از عدم تعادل موجود در کل جمعیت بود. عدم تعادل ژنتیکی در ارقام شش ردیفه نسبت به ارقام دو ردیفه روند کاهشی سریع‌تری داشت. نتایج این پژوهش نشان داد، تنوع ژنتیکی زیادی در ارقام جو پاییزه وجود دارد و می‌توان از آن در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اس.ان.پی، تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت، عدم تعادل پیوستگی، جو.

Study of Genetic Diversity and Population Structure in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Based on SNP Markers

Reza Ataei^{1*}, Majid Gholamhoseini² and Hossein Ahmadi³

1 and 2, Assistant Professors, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

3., MSc, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

(Received: May 15, 2017- Accepted: September 5, 2017)

ABSTRACT

Barley is a major crop and the fourth most important cereal in the world. Genetic diversity is a basic component in breeding programs and is crucial for successful barley improvement. SNPs are a good marker type to study diversity. SNPs represent the most abundant source of genetic variation within the genome and are linked to heritable differences between individuals. In this study we used diverse collection of 100 winter barley (*Hordeum vulgare* L.) to assess genetic diversity and population structure. Population was genotyped using 3964 SNPs with minor allele frequencies (MAFs) more than 10 percent. PIC was ranged from 0.19 to 0.5 in the whole panel and it was more than 0.25 for 3352 markers. The average of PIC was varied from 0.37 (2H and 5H chromosomes) to 0.42 (3H and 7H chromosomes). The maximum value of genetic diversity indices (Nei's index and Shannon information index) were on 3H and 7H chromosomes. Strong population structure effect related to ear row number (two-row and six-row) was present in our barley collection. AMOVA analysis and F_{st} index showed that differentiated regions of genome are correspondence with ear row number loci. Genetic diversity in the first subpopulation (two-row cultivars) was less than that in the second subpopulation (six-row cultivars). In the whole genome, average linkage disequilibrium (LD) was observed to decay at 4cM and in sub populations was more than whole panel. LD decay was more rapid in six-row cultivars compared to two-row. These results indicated considerable genetic variation in winter barley collection and could be used in barley improvement programs.

Key words: Genetic diversity, Population structure, Linkage disequilibrium, SNP, Barley.

* Corresponding author E-mail: reza_ataei@ut.ac.ir

مقدمه

ذخایر ژنتیکی با سرعت فزاینده‌ای کاهش یافته‌اند و گیاهان زراعی عمده در معرض تهدید روزافزون شرایط محیطی نامناسب و تنش‌های زیستی و غیر زیستی قرار گرفته‌اند، تردیدی وجود ندارد.

امروزه نشانگرهای مولکولی برای هدف‌های خاص مانند بررسی تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت و یا شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مهم زراعی و مقاومت به تنش-های زنده و غیرزنده به‌طور گسترده‌ای استفاده می‌شوند (Jain et al., 2002; Gupta & Varshney, 2005). یکی از نشانگرهای مولکولی تفاوت‌های تک نوکلئوتیدی (اس.ان.پی)^۳ است که به دلیل در دسترس بودن تعداد زیادی نشانگر اس.ان.پی، میزان پایین اشتباه در نمره‌دهی آلل‌ها و به دلیل قابل مقایسه بودن نتایج آزمایشگاه‌های مختلف امروزه بیشتر از هر نشانگر دیگری مورد توجه قرار گرفته‌اند. با وجود کاستی‌هایی که این نشانگرها نسبت به نشانگرهای ریزماهوره (اس.اس.آر)^۴ دارند، نتایج بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد، استفاده از تعداد زیادی اس.ان.پی می‌تواند کاستی‌های آن را نسبت به نشانگر اس.اس.آر برطرف کند (Paschou et al., 2007). به‌رغم اینکه اس.اس.آرها تنوع آلی زیادی از خود نشان می‌دهند و اطلاعات به‌دست‌آمده از آن‌ها در جمعیت نسبت به اس.ان.پی‌ها (در صورت کاربرد تعداد برابر از هر دو نشانگر) بیشتر است اما فراوانی زیاد اس.ان.پی‌ها در ژنوم نسبت به اس.اس.آر تا حد زیادی می‌تواند این کاستی‌ها را برطرف کند.

کاربرد اس.ان.پی در جو نشان داد، به ازای هر ۱۸۹ جفت‌باز یک اس.ان.پی وجود دارد (Kanazin et al., 2002) و آلل‌های همسانی در دو گونه *H. vulgare* L. و *H. spontaneum* L. وجود دارد. Edwards et al. (2001) اس.ان.پی‌های فراوانی در نواحی حفاظت‌شده اس.اس.آرهای ذرت شناسایی و نشان دادند، اس.ان.پی‌ها به‌خوبی می‌توانند جایگزین اس.اس.آرها شوند. در تحقیقی ۲۱۳ نشانگر اس.ان.پی را در برنج به‌کار بردند و نشان دادند، این نشانگر به‌خوبی می‌تواند برای بررسی ژنوم و به‌هزادی مولکولی برنج استفاده شود (Nasu et al., 2002). در تحقیق دیگری ساختار و تنوع ژنتیکی تعداد ۱۴۸۵ رقم بومی جو بهاره

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی اهلی شده است. امروزه جو به دلیل موارد استفاده زیاد آن در تغذیه انسان و دام، تولید مالت و استفاده در صنایع تبدیلی یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده غلات است و از نظر اهمیت اقتصادی پس از گندم، برنج و ذرت در مقام چهارم جهان قرار گرفته است (Ferreira et al., 2016). افزون بر اهمیت اقتصادی، ژنوم جو (در حدود ۵/۱ میلیارد جفت باز) مدل مهمی برای بررسی‌های ژنتیکی به شمار می‌رود، زیرا گیاهی است خودگشن، دیپلوئید با تعداد کروموزوم کم ($2n=2x=14$) و به نسبت بزرگ (۶-۸ میکرومتر) و همچنین دورگ‌گیری نیز در آن آسان است (Sreenivasulu et al., 2008). در سال‌های اخیر کاربرد فناوری‌های پیشرفته توالی‌یابی، اطلاعات ارزشمندی را درباره ژنوم جو در دسترس پژوهشگران قرار داده است (Wicker et al., 2008; Wicker et Schulte et al., 2009; al., 2006). امروزه با استفاده از تلفیق نسل جدید فناوری توالی‌یابی و مرتب‌سازی جریان کروموزومی^۱، نقشه ژنتیکی کروموزوم شماره ۱ جو با وضوح بالا و با ۱۹۸۷ ژن ترسیم شده است (Mayer et al., 2009). این نقشه ژنتیکی با ژنوم خانواده گندمیان مانند سورگوم و برنج همگونی بسیار بالایی دارد (Bolot et al., 2009). علاوه بر نزدیکی زیاد ژنوم جو و دیگر گیاهان خانواده گندمیان مانند برنج و سورگوم، وجود ۵۰۱۸۳۳ ای.اس.تی^۲ در بانک اطلاعاتی NCBI و در دسترس بودن انواع شکل‌های جهش‌یافته و همچنین چرخه زیستی کوتاه باعث شده‌اند تا جو گیاه مدل مهمی برای بررسی‌های ژنتیکی باشد. وجود تنوع ژنتیکی پایه کارهای اصلاحی است. تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی برای به دست آوردن رقم‌های جدید با عملکرد بالا، سازگاری به تنش‌های محیطی و مقاومت به آفات و عامل‌های بیماری‌زا ضروری است (Laurentin, 2009). متأسفانه یکی از پیامدهای اجتناب‌ناپذیر کشاورزی پیشرفته که مبتنی بر استفاده از رقم (واریته)‌های اصلاح‌شده است، کاهش تنوع ذخایر ژنتیکی بوده است. اگرچه برآورد این کاهش تنوع ژنتیکی مشکل و یا غیرممکن می‌نماید اما در اینکه تعداد بسیاری از ژن‌های سودمند از دست رفته‌اند و

3. Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
4. Simple Sequence Repeat (SSR)

1. Flow sorting
2. Expressed sequence tag (EST)

مؤسسه IPK- Gatersleben در آلمان ارزیابی شد. موقعیت اغلب این نشانگرها روی ۷ گروه پیوستگی جو مشخص بود (Tondelli *et al.*, 2013). نشانگرهایی با داده گمشده بیشتر از ۱۰ درصد و MAF^۵ کمتر از ۱۰ درصد حذف شد (Mandel *et al.*, 2013) و مجموعه جدیدی متشکل از ۳۹۶۴ اس.ان.پی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت استفاده شد. برای تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت از روش‌های متفاوتی استفاده شد. محتوای اطلاعات چندشکلی برای هر نشانگر با استفاده از رابطه زیر:

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

محاسبه شد. در این رابطه P_i فراوانی آمین آلل و n تعداد آلل هر نشانگر اس.ان.پی است (Chen *et al.*, 2011). این شاخص می‌تواند بین صفر (برای آلل‌های یک‌شکل در جمعیت) و یک (برای آلل‌هایی که فراوانی آن‌ها در جمعیت برابر است) برای نشانگرهای چندآلی و بین صفر و نیم (برای نشانگرهای دوآلی تغییر کند. شاخص‌های تنوع ژنتیکی (شاخص نی^۶ و شاخص اطلاعات شانون^۷) با استفاده از نرم‌افزار Popgene 1.32 محاسبه شد (Yeh *et al.*, 1999). تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های نشانگرها توسط نرم‌افزار PAST (Hammer *et al.*, 2001) انجام شد و دندروگرام مربوطه بر پایه الگوریتم UPGMA و با استفاده از شاخص تشابه اقلیدسی محاسبه شد. همچنین تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از ماتریس تشابه اقلیدسی انجام گرفت. این تجزیه به صورت گرافیکی زیرجمعیت‌ها را تا حدی آشکار کرد. برای درک بهتر تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت و برآورد میزان تمایز نواحی ژنومی تجزیه واریانس مولکولی با نرم‌افزار Arlequin3.5 (Excoffier & Lischer, 2010) صورت پذیرفت. واریانس مولکولی بر پایه شاخص تثبیت (F_{st}) محاسبه شد. وجود زیرجمعیت‌ها با روش بیس و نرم‌افزار Structure 2.3 با سه تکرار و ۳۰۰۰۰ جایگشت بررسی شد (Pritchard *et al.*, 2000). تعداد خوشه‌هایی (K) که ساختار جمعیت را بهتر نشان می‌دادند، با نرم‌افزار Structure Harvester تعیین شد (Evanno *et al.*, 2005).

(گردآوری شده از ۴۱ کشور جهان) را با استفاده از ۴۲ نشانگر اس.ان.پی آر ارزیابی و گزارش کردند، ده زیرجمعیت موجود در جمعیت با منشأ جغرافیایی، مورفولوژی سنبله (دو ردیفه یا شش ردیفه) و تیپ دانه هماهنگی دارد (Pasam *et al.*, 2014). بررسی تنوع ژنتیکی ذخایر توارثی (ژرم پلاسما) جو برزیل با استفاده از نشانگرهای اس.ان.پی آر نشان داد، تعداد آلل‌های موجود در ذخایر توارثی سال ۱۹۸۰ بسیار بیشتر بوده است و اغلب رقم‌های آزادشده پس از سال ۱۹۸۰ ظرفیت اطلاعات چندشکلی^۱ پایینی نسبت به رقم‌های قدیمی‌تر نشان می‌دهند (Ferreira *et al.*, 2016). در این پژوهش به منظور تجزیه تنوع ژنتیکی جمعیت محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرها، شاخص‌های تنوع (شاخص شانون و نی) و شاخص تثبیت^۲ در جمعیت متشکل از ۱۰۰ رقم جو پاییزه با ۳۹۶۴ نشانگر اس.ان.پی بررسی شد. همچنین ساختار این جمعیت با استفاده از روش‌های مختلف آماری (تجزیه خوشه‌ای یا کلاستر، تجزیه به مختصات اصلی و روش بیس^۳)، عدم تعادل پیوستگی (لینکاژی) و الگوی کاهش عدم تعادل پیوستگی در جمعیت و زیر جمعیت‌های موجود آزمایش شد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش ۱۰۰ رقم جو پاییزه استفاده شد. این مجموعه شامل ۵۰ رقم جو دوردیفه و ۵۰ رقم جو شش ردیفه از کشورهای فرانسه (۳۴ ژنوتیپ)، آلمان (۲۶ ژنوتیپ)، انگلستان (۱۶ ژنوتیپ)، ایتالیا (۱۷ ژنوتیپ)، دانمارک (۲ ژنوتیپ)، بلژیک (۱ ژنوتیپ) و اتریش (۱ ژنوتیپ) بود و اطلاعات مربوط به سه ژنوتیپ در دسترس نبود. قدیمی‌ترین رقم موجود در این مجموعه در سال ۱۹۳۷ و جدیدترین آن در سال ۲۰۰۶ آزادسازی شده است (جدول ۱). آزمایش در مرکز تحقیقات ژنومیکس ایتالیا^۴ و با همکاری دانشگاه میلان انجام گرفت. استخراج دی.ان.ای با استفاده از کیت Tepnel Nucleoplex Plant DNA صورت پذیرفت. هر رقم با مجموعه‌ای از ۷۸۶۴ اس.ان.پی به وسیله Single IllumineTM Iselect Assay با همکاری

5. Minor Allele Frequency
6. Nei's index
7. Shannon's information index

1. polymorphism information content (PIC)
2. Fixation Index
3. Bayesian Method
4. Genomics Research Centre

کروموزوم (جو). برای تعیین الگوی کاهش عدم تعادل پیوستگی مقادیر r^2 و فاصله ژنتیکی (سانتی‌مورگان) روی یکدیگر پلات شد و رگرسیون LOWESS¹ (Jacoby, 2000) برازش داده شد.

عدم تعادل پیوستگی مربوط به هر جفت نشانگر و آماره r^2 با استفاده از نرم‌افزار Haploview 4.2 (Barrett et al., 2005) محاسبه شد. برای تعیین عدم تعادل پیوستگی تنها از نشانگرهایی استفاده شد که مکان کروموزومی آن‌ها مشخص بودند (۳۵۱۴ نشانگر اس.ان.پی روی هفت

جدول ۱. نام و برخی ویژگی‌های ارقام مورد استفاده در این پژوهش.

Table 1- Name and some characteristics of studied cultivars.

Year of release	Cultivar	Row	Origin	Year of release	Cultivar	Row	Origin	Year of release	Cultivar	Row
۱۹۳۷	Hatif de Grignon	۷۱	Italy	۱۹۹۸	Nure	۳۶	Italy	۱۹۹۴	Aci	۱
۱۹۵۰	Herfordia	۷۲	Farance	۱۹۸۳	Panda	۳۷	Italy	۲۰۰۲	Aiace	۲
۱۹۷۰	Hoppel	۷۳	England	۱۹۹۷	Pearl	۳۸	Italy	۱۹۹۹	Airone	۳
۱۹۸۵	Isa	۷۴	Farance	۱۹۹۶	Platine	۳۹	Italy	۲۰۰۴	Alce	۴
۱۹۸۱	Jaidor	۷۵	England	۱۹۸۹	Puffin	۴۰	Italy	۱۹۹۳	Alfeo	۵
۲۰۰۲	Ketos	۷۶	Italy	۱۹۹۰	Red	۴۱	Germany	۱۹۷۲	Alpha	۶
۲۰۰۴	Laverda	۷۷	Germany	۱۹۷۴	Sonja	۴۲	Farance	۱۹۹۵	Amillis	۷
۱۹۹۸	Letizia	۷۸	England	۱۹۹۲	Sprite	۴۳	Germany	۲۰۰۳	Aquarelle	۸
۲۰۰۵	Lonni	۷۹	England	۱۹۹۲	Target	۴۴	Italy	۱۹۸۵	Arda	۹
۱۹۹۳	Lorena	۸۰	Germany	۱۹۹۴	Tiffany	۴۵	Italy	۱۹۹۳	Asso	۱۰
۱۹۹۹	Ludmilla	۸۱	---	--	Trasimeno	۴۶	Farance	۱۹۸۶	Baraka	۱۱
۱۹۸۸	Manitou	۸۲	Germany	۱۹۹۶	Ultra	۴۷	England	۲۰۰۲	Carat	۱۲
۱۹۹۸	Mattina	۸۳	Farance	۲۰۰۰	Verticale	۴۸	Germany	۲۰۰۱	Clara	۱۳
۱۹۸۱	Mirco	۸۴	Farance	۱۹۹۵	Vertige	۴۹	Farance	۱۹۸۸	Clarine	۱۴
۲۰۰۳	Naomie	۸۵	Italy	۲۰۰۰	Zacinto	۵۰	Farance	۲۰۰۱	Dolmen	۱۵
۱۹۹۶	Nikel	۸۶	--	--	Abondant	۵۱	Farance	۱۹۹۶	Duchesse	۱۶
۱۹۹۷	Passport	۸۷	Farance	۱۹۶۳	Ager	۵۲	England	۱۹۹۵	Duet	۱۷
۱۹۹۵	Patricia	۸۸	Italy	۲۰۰۳	Aldebaran	۵۳	England	۱۹۹۱	Fighter	۱۸
۱۹۶۰	Perga	۸۹	Germany	۱۹۷۷	Athene	۵۴	England	۱۹۸۸	Finesse	۱۹
۱۹۷۸	Pirate	۹۰	Farance	۱۹۹۶	Balaki	۵۵	--	--	Fjord	۲۰
۱۹۷۹	Plaisant	۹۱	Italy	۱۹۹۸	Balda	۵۶	England	۱۹۹۶	Gleam	۲۱
۲۰۰۱	Ponente	۹۲	Italy	۱۹۹۲	Canoro	۵۷	England	۱۹۶۸	Halcyon	۲۲
۱۹۸۸	Rebhel	۹۳	Farance	۱۹۷۵	Crimont	۵۸	England	۱۹۹۸	Heligan	۲۳
۱۹۷۳	Robur	۹۴	Germany	۱۹۵۳	Dea	۵۹	England	۱۹۹۷	Jewel	۲۴
۱۹۹۵	Sereno	۹۵	Farance	۱۹۹۷	Djebhel	۶۰	Germany	۱۹۸۱	Kaskade	۲۵
۱۹۹۲	Sonora	۹۶	Germany	۱۹۶۱	Dura	۶۱	Farance	۱۹۹۰	Kelibia	۲۶
۱۹۹۲	Tamaris	۹۷	Farance	۱۹۹۶	Esterel	۶۲	England	۲۰۰۳	Kestrel	۲۷
۱۹۹۰	Trebbia	۹۸	Farance	۱۹۹۰	Express	۶۳	Germany	۱۹۹۲	Labea	۲۸
۱۹۸۳	Vetulio	۹۹	Farance	۱۹۹۴	Federal	۶۴	Germany	۲۰۰۰	Leonie	۲۹
۱۹۶۵	Vogelsanger Gold	۱۰۰	Germany	۱۹۸۰	Franka	۶۵	Farance	۱۹۸۳	Magie	۳۰
			Germany	۲۰۰۶	Fridericus	۶۶	Germany	۱۹۶۸	Malta	۳۱
			Farance	۱۹۹۸	Gaiano	۶۷	Denmark	۲۰۰۴	Malwinta	۳۲
			Farance	۱۹۷۷	Gerbel	۶۸	Farance	۲۰۰۱	Manolia	۳۳
			Farance	۱۹۸۸	Glenan	۶۹	Germany	۱۹۹۳	Melanie	۳۴
			Germany	۱۹۸۹	Grete	۷۰	Farance	۲۰۰۲	Murcie	۳۵

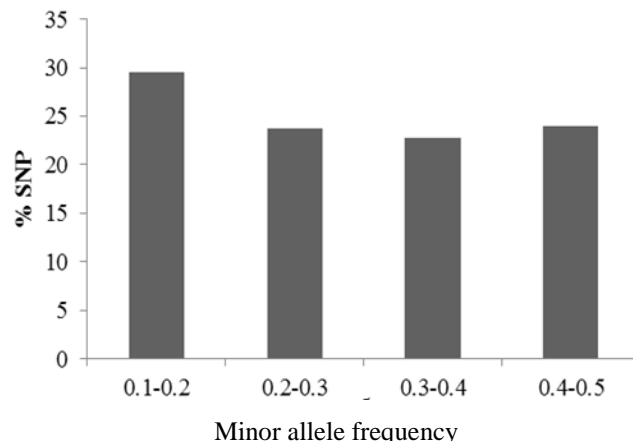
*: ۵۰ رقم اول دوردیفه و ۵۰ رقم بعدی شش ردیفه است.

نتایج و بحث

درصد) بدون مکان کروموزومی مشخص بودند. این نشانگرها روی هر هفت کروموزوم جو با میانگین فاصله ۰/۲۸ سانتی‌مورگان توزیع شده بود. توزیع نشانگرها روی کروموزوم‌ها به صورت یکنواخت نبود و بیشترین تعداد نشانگر مربوط به کروموزوم شماره ۶ و کمترین آن مربوط به کروموزوم شماره ۱ بود.

از مجموع ۳۹۶۴ نشانگر مورد استفاده برای ارزیابی ژنوتیپی، ۲۹/۵ درصد از نشانگرها فراوانی آلل مینور بین ۰/۱-۰/۲، ۲۳/۷ درصد بین ۰/۲-۰/۳، ۲۲/۷ درصد بین ۰/۳-۰/۴ و نزدیک به ۲۴ درصد ۰/۴-۰/۵ را داشتند (شکل-۱). از این تعداد نشانگر، مکان ژنومی ۳۵۱۴ نشانگر روی هفت کروموزوم جو مشخص بود و ۴۵۰ نشانگر (۱۱

1. Locally weighted scatterplot smoothing



شکل ۱. توزیع فراوانی آلل مینور نشانگرهای مورد استفاده در آزمایش (۳۹۶۴ نشانگر).
Fig 1- Minor allele frequency distribution of studied markers (3964 markers).

۵۰ درصد کل تنوع جمعیت را توجیه می‌کنند. بای پلات مؤلفه اول روی مؤلفه دوم این جمعیت را به دو گروه تقسیم کرد. مؤلفه اول ۱۳/۸ درصد و مؤلفه دوم ۸/۹۷ درصد کل تنوع موجود را توجیه می‌کردند. بررسی‌های بعدی نشان داد، زیرگروه‌های موجود در جمعیت با مورفولوژی سنبله (دوردیفه یا شش ردیفه بودن) هماهنگی دارند. گروه اول شامل ۵۰ رقم دوردیفه و گروه دوم شامل ۵۰ رقم شش ردیفه بود (شکل ۲). تجزیه فیلوژنیک و ترسیم دندروگرام (با ضریب کوفنتیک ۰/۸۹) بر پایه نشانگرهای مورد استفاده، یکبار دیگر جمعیت را به دو گروه کامل جداگانه تقسیم کرد. (شکل ۳).

از دندروگرام مربوطه مشاهده می‌شود دو کلاستر هماهنگی خوبی با مورفولوژی سنبله دارد. این نتایج هماهنگی خوبی با نتایج به دست آمده از تجزیه به مختصات اصلی داشت. تجزیه ساختار جمعیت با استفاده از نرم-افزارهای Structure Harvester و Structure نشان داد، شاخص ΔK بیشترین میزان را در $K=2$ دارد که نشان‌دهنده وجود دو زیرجمعیت است. در میزان $K=2$ جمعیت به دو زیرگروه ژنوتیپ‌های دوردیفه و شش ردیفه تقسیم می‌شود (شکل ۴).

تجزیه واریانس مولکولی با فرض وجود دو زیرجمعیت (رقم‌های دوردیفه، رقم‌های شش ردیفه) نشان داد، ۲۰ درصد از تنوع مولکولی کل توسط تنوع موجود در بین زیرجمعیت‌ها توجیه می‌شود و ۸۰ درصد از آن تنوع مربوط به درون زیرجمعیت‌ها است. نتایج تجزیه واریانس مولکولی

دامنه شاخص PIC در کل جمعیت از ۰/۱۹ تا ۰/۵ با میانگین ۰/۳۹ بود. با توجه به دو آللی بودن نشانگر اس.ان.پی و ماهیت هاپلوتایپی داده‌های اس.ان.پی، این شاخص بین صفر و نیم متغیر است و میانگین ۰/۳۹ نشان‌دهنده سودمندی نشانگرهای بکار رفته در این پژوهش است. میزان این شاخص برای اغلب نشانگرها (۳۳۵۲ نشانگر) بیشتر از ۰/۲۵ بود. میانگین شاخص PIC روی کروموزوم‌های مختلف از ۰/۳۷ (کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵) تا ۰/۴۲ (کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷) متغیر بود. مشابه با شاخص PIC، شاخص‌های تنوع نی و شانون بیشترین میزان را روی کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷ داشتند و کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵ کمترین تنوع را از لحاظ شاخص‌های بالا نشان دادند (جدول ۲). برخی از گزارش‌ها گویای آن است که ساختار جمعیت رقم‌های جو با مورفولوژی سنبله (دوردیفه یا شش ردیفه بودن) ارتباط دارد (Zhang et al., 2009). لذا محاسبه شاخص‌های PIC، نی و شانون درون گروه‌های متشکل از ژنوتیپ‌های دوردیفه و شش ردیفه نشان داد، میانگین آماره‌های بالا در رقم‌های دوردیفه (به ترتیب ۰/۳۰، ۰/۳۱ و ۰/۴۸) کمتر از رقم‌های شش ردیفه (به ترتیب ۰/۳۷، ۰/۳۷ و ۰/۵۵) است که نشان می‌دهد، تنوع ژنتیکی جوهای شش ردیفه بیشتر از جوهای دوردیفه است.

به منظور تجزیه ساختار جمعیت چندین روش برای تعیین زیرگروه‌ها در جمعیت استفاده شد. تجزیه به مختصات اصلی با نرم‌افزار PAST نشان داد، ده مؤلفه اول

(Ramsay *et al.*, 2011). روی کروموزوم شماره ۵ مناطق تمایز یافته‌ای مشاهده نشد، که نشان می‌دهد، جمعیت مورد بررسی بدون شکل آللی vrs_2 است. کروموزوم‌های شماره ۶ و ۷ میزان F_{st} را در حد بالایی نشان دادند، ممکن است حاوی شکل‌های آللی جدید برای ژن vrs باشند (شکل ۵).

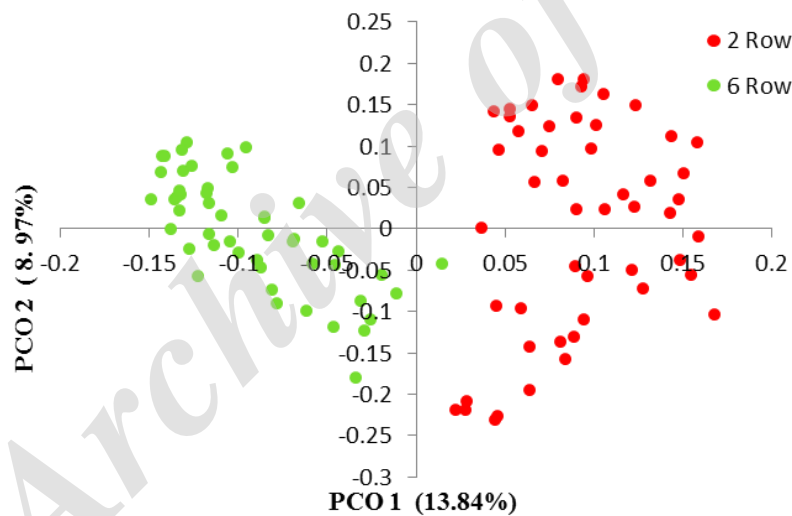
و محاسبه شاخص F_{st} برای نواحی از ژنوم که باعث تمایز دو زیرجمعیت شده‌اند، نشان داد این مناطق ژنومی روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب با ژن‌های vrs_3 ، vrs_1 ، vrs_4 و $int-c$ هم‌مکان بودند که این ژن‌ها مسئول دوردیفه یا شش ردیفه بودن در جمعیت‌های جو هستند

جدول ۲. توزیع نشانگرها و شاخص PIC روی کروموزوم‌های مختلف جو.

Table 2- Distribution of markers and PIC index on the different barley chromosomes.

chromosome	SNP Number	PIC	h^*	I^{**}
1H	۳۹۳	۰/۴۱	۰/۴۱±۰/۰۹	۰/۵۹±۰/۱۰
2H	۴۲۶	۰/۳۷	۰/۳۶±۰/۱۰	۰/۵۴±۰/۱۱
3H	۵۵۷	۰/۴۲	۰/۴۰±۰/۰۸	۰/۶۰±۰/۰۹
4H	۴۵۸	۰/۳۸	۰/۳۸±۰/۰۹	۰/۵۶±۰/۱۱
5H	۴۷۰	۰/۳۷	۰/۳۶±۰/۱۱	۰/۵۴±۰/۱۲
6H	۶۴۳	۰/۳۸	۰/۳۸±۰/۰۹	۰/۵۷±۰/۱۱
7H	۵۶۷	۰/۴۲	۰/۴۲±۰/۰۸	۰/۶۱±۰/۰۹
Unmapped	۴۵۰	۰/۳۴	۰/۳۳±۰/۱۰	۰/۵۱±۰/۱۱
Under the first population (two-row digits)	۳۹۶۴	۰/۳۰	۰/۳۱±۰/۰۷	۰/۴۸±۰/۰۸
Sub-population two (six-row digits)	۳۹۶۴	۰/۳۷	۰/۳۷±۰/۰۷	۰/۵۵±۰/۰۷

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده شاخص نی و شانون است.



شکل ۲. تجزیه به مختصات اصلی بر پایه ۳۹۶۴ نشانگر و تقسیم جمعیت به دو زیرگروه متشکل از رقم‌های دوردیفه (رنگ قرمز) و شش ردیفه (رنگ سبز).

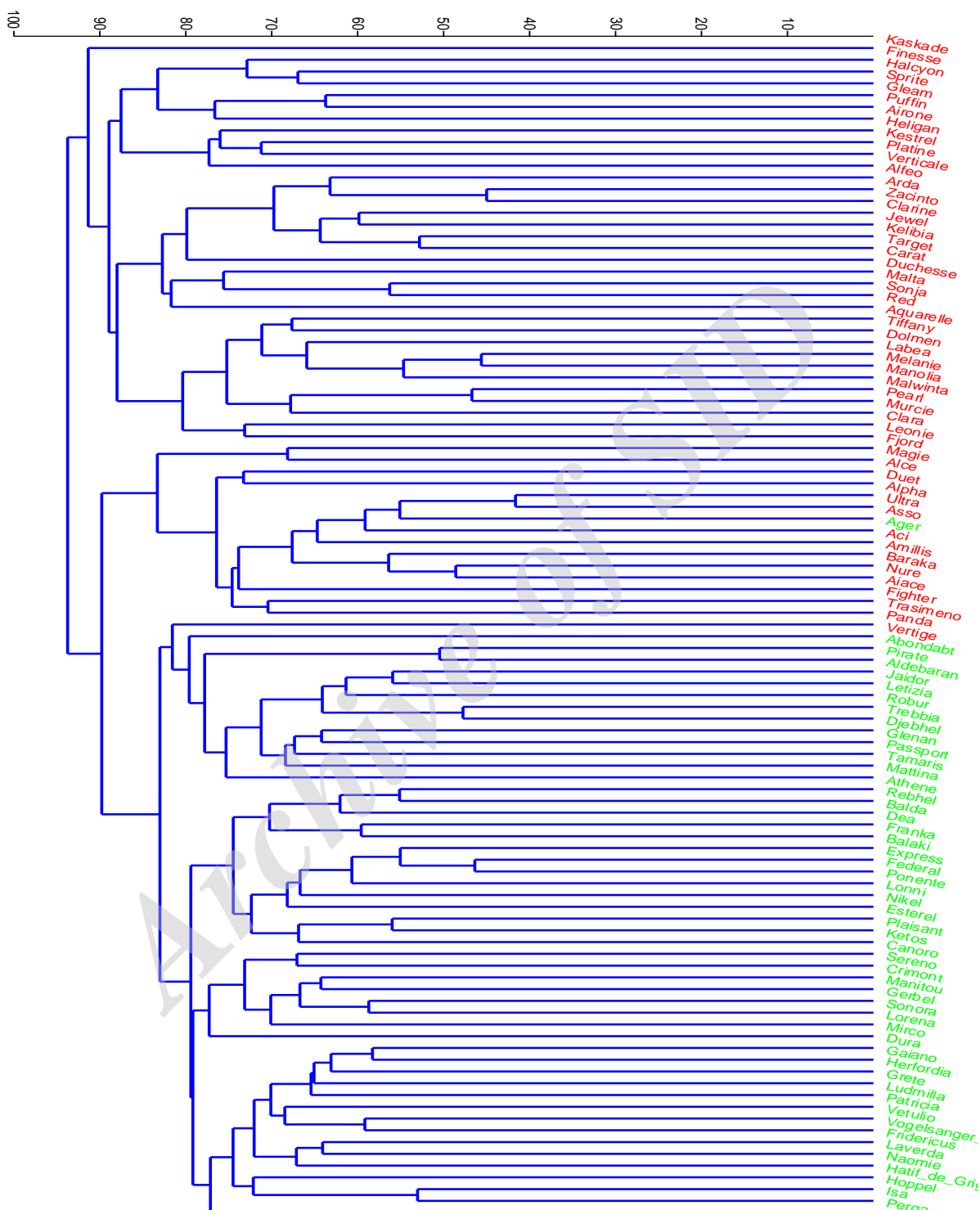
Fig 2- PCO analysis based on 3964 markers and two sub-populations include 2 row (red) and 6 row (green) cultivars.

عدم تعادل پیوستگی مربوط به کروموزوم شماره ۷ (۰/۵۰۷) و کمترین میزان به کروموزوم شماره ۲ (۰/۲۳۷) اختصاص داشت. در فاصله ۱۰-۵ سانتی مورگان بیشترین میزان مربوط به کروموزوم شماره ۳ (۰/۱۸۲) و کمترین میزان مربوط به کروموزوم شماره ۲ (۰/۰۹۶) بود. در بین نشانگرهای مستقل از هم با فاصله بیش از ۵۰ سانتی مورگان،

میانگین شاخص عدم تعادل پیوستگی (r^2) برای هر کروموزوم در فاصله‌های ژنتیکی مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. جفت نشانگرهایی که در فاصله کمتر از ۵ سانتی مورگان قرار دارند و پیوستگی زیادی با یکدیگر دارند، بیشترین عدم تعادل را روی هر هفت کروموزوم با میانگین ۰/۳۲۲ از خود نشان دادند. در این فاصله ژنتیکی بیشترین

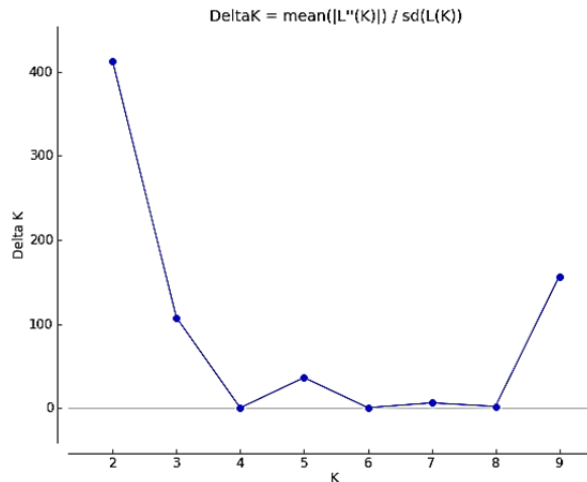
داشت (جدول ۳).

کمترین و بیشترین عدم تعادل پیوستگی به کروموزوم‌های شماره ۵ و ۴ به ترتیب با مقادیر ۰/۰۲۴ و ۰/۰۴۷ اختصاص



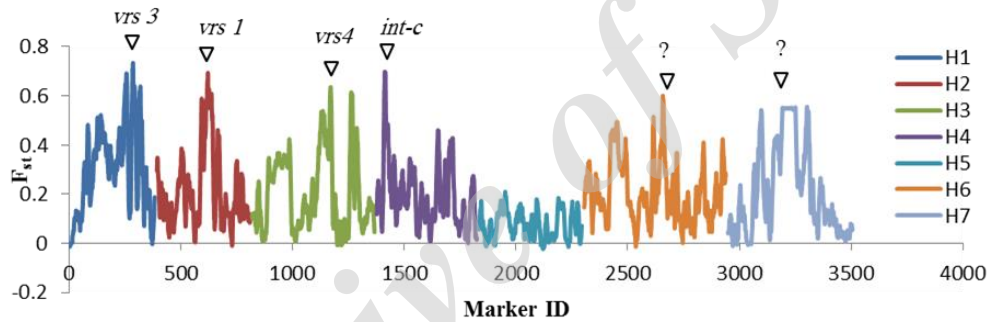
شکل ۳. دندروگرام مربوط به ۱۰۰ ژنوتیپ بر پایه ۳۹۶۴ اس.ان.پی. جمعیت به دو گروه کامل مجزا تقسیم شده است. ژنوتیپ‌های قرمز رنگ دوردیفه و ژنوتیپ‌های سبزرنگ شش ردیفه هستند.

Fig 3. Dendrogram of 100 genotypes based on 3964 SNP. 2 row (red) and 6 row (green) sub populations



شکل ۴. تعیین زیرجمعیت‌ها با استفاده از Structure Harvester و روش Evanno *et al.* (2005). محور عمودی میزان آماره ΔK و محور افقی تعداد زیر جمعیت‌ها را نشان می‌دهد.

Fig 4. Detection of subpopulations by structure harvester and Evanno *et al.* (2005) method. vertical axis displays ΔK and horizontal axis shows subpopulation number.



شکل ۵. تجزیه واریانس مولکولی و شاخص Fst. نواحی متناظر با ژن‌های مسئول دوردیفه و شش ردیفه بودن جو نشان داده شده است. AMOVA analysis and Fst index. genomic regions correspondence with ear row number loci in Fig 5 barley are shown.

جدول ۳. میانگین شاخص عدم تعادل پیوستگی در فاصله‌های ژنتیکی مختلف روی هفت کروموزوم جو.

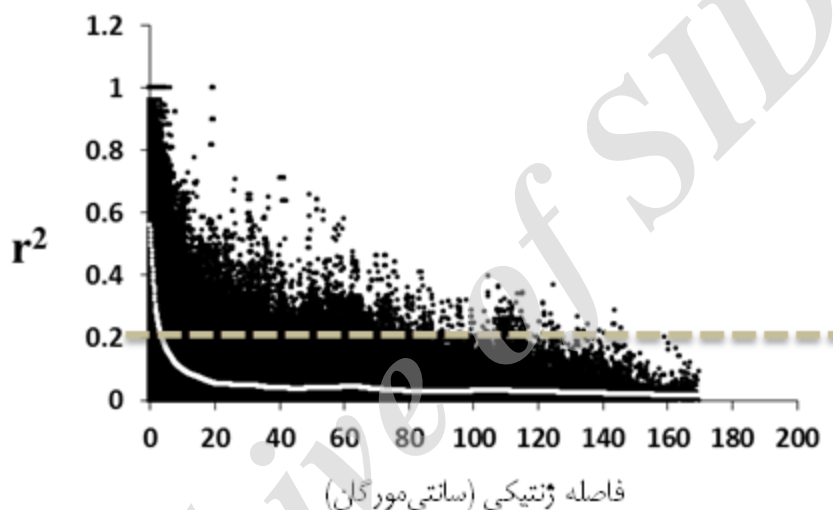
Table 3. Linkage disequilibrium (LD) in different genetic distance on the barley chromosomes.

chromosome	Map length (CM [*])	The mean of the lack of continuity equation (r^2) between the pairs of markers				
		D ^{**} <5 CM	D = 5- 10 CM	D = 10- 20 CM	D= 20- 50 CM	D> 50 CM
1H	۱۳۳/۱۴	۰/۳۵۴	۰/۱۵۴	۰/۱۰۶	۰/۰۶۳	۰/۰۳۶
2H	۱۴۹/۵	۰/۲۳۷	۰/۰۹۶	۰/۰۵۳	۰/۰۳۸	۰/۰۳۳
3H	۱۵۵/۰۹	۰/۳۷۴	۰/۱۸۲	۰/۰۸۹	۰/۰۴۱	۰/۰۳۲
4H	۱۱۵/۲۳	۰/۲۵۹	۰/۱۰۰	۰/۰۷۴	۰/۰۵۲	۰/۰۴۷
5H	۱۶۹/۶۶	۰/۲۷۴	۰/۱۱۷	۰/۰۶۰	۰/۰۳۲	۰/۰۲۴
6H	۱۲۶/۶۳	۰/۲۴۹	۰/۱۱۶	۰/۰۶۳	۰/۰۳۸	۰/۰۴۵
7H	۱۴۰/۹	۰/۵۰۷	۰/۱۲۵	۰/۰۷۳	۰/۰۴۰	۰/۰۲۸

احتمال ۹۰ درصد) میزان ۰/۲ در نظر گرفته شد و فرض بر این است که مقادیر بیشتر از حد بحرانی با پیوستگی ژنتیکی ایجاد می‌شوند. نقطه برخورد منحنی رگرسیون

بای پلات فاصله ژنتیکی (سانتی‌مورگان) و شاخص عدم تعادل نشان داد، با افزایش فاصله ژنتیکی، عدم تعادل گامتی کاهش می‌یابد. میزان بحرانی شاخص عدم تعادل (با

پیوستگی درون زیرجمعیت‌ها نشان داد، میانگین عدم تعادل پیوستگی برای رقم‌های دوردیفه و شش ردیفه به ترتیب ۰/۱۰ و ۰/۰۹ بود که بیشتر از میانگین کل جمعیت (۰/۰۸) است. درصد r^2 معنی‌دار در رقم‌های دوردیفه (۰/۲۱) بیشتر از رقم‌های شش ردیفه (۰/۱۵) بود. همچنین عدم تعادل پیوستگی در رقم‌های دوردیفه با سرعت کمتری نسبت به رقم‌های شش ردیفه و کل جمعیت کاهش می‌یابد. در کل جمعیت کاهش عدم تعادل پیوستگی در فاصله ۴ سانتی‌مورگانی رخ داد، درحالی‌که در رقم‌های دو ردیفه این کاهش در فاصله نزدیک به ۸ سانتی‌مورگانی و در رقم‌های شش ردیفه در فاصله ۶ سانتی‌مورگانی رخ داد.



شکل ۶. الگوی کاهش عدم تعادل جفت نشانگرها با افزایش فاصله ژنتیکی (سانتی‌مورگان). خط افقی (بریده‌شده) نشان‌دهنده میزان بحرانی عدم تعادل پیوستگی است و رگرسیون LOWESS (منحنی سفیدرنگ) نشان‌دهنده چگونگی کاهش عدم تعادل نشانگرها است.

Fig 6. LD (r^2) decay of marker pairs over all chromosomes as a function of genetic distance (CM). The horizontal line indicates the 90th percentile distribution of unlinked r^2 . The LOWESS fitting curve (white line) illustrates the LD decay.

یکی از مراحل اساسی در نقشه‌یابی ارتباطی است (Flint-Garcia *et al.*, 2005). نتایج بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد، تیپ رشدی (زمستانه یا بهاره بودن)، مورفولوژی سنبله (دوردیفه و شش ردیفه بودن) و منشأ جغرافیایی مهم‌ترین عوامل ایجاد ساختار در جمعیت‌های جو هستند (Malysheva-Otto *et Hamblin et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2009; Rostoks *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2009). به دلیل اینکه این پژوهش محدود به رقم‌های زمستانه بود و همچنین جمعیت مورد استفاده متشکل از رقم‌های اروپایی بود، لذا مورفولوژی سنبله مهم‌ترین عامل ایجاد ساختار در جمعیت بود. ساختار موجود در خزانه ژنی

LOWESS با میزان بحرانی عدم تعادل به‌عنوان نقطه کاهش میانگین عدم تعادل در جمعیت تعریف می‌شود که برابر با ۴ سانتی‌مورگان است (شکل ۶). همبستگی بین r^2 و فاصله ژنتیکی بین نشانگرهایی با فاصله کمتر از ۴ سانتی‌مورگان، معنی‌دار بود (-۰/۳۹) و ۵۴ درصد این نشانگرها بالاتر از حد بحرانی r^2 (۰/۲) قرار داشتند. عدم تعادل پیوستگی در طول کروموزوم نیز متغیر بود. در نواحی سانترومیری که احتمال رخداد نوترکیبی کم است عدم تعادل پیوستگی افزایش می‌یابد، برعکس در نواحی تلومیری رخداد نوترکیبی‌های پی‌درپی باعث کاهش میزان عدم تعادل در این نواحی شده است. بررسی عدم تعادل

جمعیت مورد استفاده در این پژوهش متشکل از رقم‌های دوردیفه و شش ردیفه بود که از کشورهای اروپایی گردآوری شده بود، لذا تنوع موجود تا حدودی مشابه تنوع جمعیت مورد بررسی (Kraakman *et al.*, 2004) (Zhang *et al.*; Zhang *et al.*) بود که به ترتیب محدود به نمونه‌های اروپا و کانادا بود. بررسی‌های مربوط به تنوع ژنتیکی جو نشان می‌دهد، جوهای زمستانه و بهاره دو خزانه ژنی متفاوت دارند، لذا به‌منظور ایجاد تعادل بین افزایش تنوع ژنتیکی و کاهش ساختار جمعیت، در این پژوهش جمعیت مورد بررسی محدود به جوهای زمستانه و رقم‌های اروپایی بود. شناسایی زیرجمعیت‌های موجود درون یک جمعیت

وزن هزاردانۀ آن‌ها ۲۵ تا ۳۰ درصد کمتر از جوهای -
دوردیفه است (Nour-Mohammadi *et al.*, 2004). البته
ممکن است این نواحی حاوی شکل‌های آلیلی جدید برای
ژن *vrs* باشد که تاکنون شناخته نشده‌اند و نیاز به بررسی-
های بیشتر دارد.

در این تحقیق جنبه‌های متفاوتی از عدم تعادل
پیوستگی بررسی و نشان داده شد، عدم تعادل پیوستگی در
طول کروموزوم و از کروموزومی به کروموزوم دیگر متغیر
است. بررسی عدم تعادل پیوستگی در جو با استفاده از
جمعیت‌های مختلف و نشانگرهای متفاوت مانند
ای.اف.ال.پی، اس.اس.آر و دارت گزارش شده است. با این
وجود تنها تعداد کمی از بررسی‌های عدم تعادل وجود دارد
که با بیش از ۱۰۰۰ نشانگر انجام شده است (Kraakman
; Malysheva-Otto *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2004
; *al.*, 2009). در این پژوهش عدم تعادل پیوستگی کل
جمعیت در فاصله ۴ سانتی‌مورگانی کاهش یافت.
بررسی‌های پیشین سطوح مختلفی برای کاهش عدم تعادل
پیوستگی در جمعیت‌های مختلف (Caldwell *et al.*, 2006;
Ramsay *et al.*, 2011; Stracke *et al.*, 2007) و
کروموزوم‌های متفاوت (Rostoks *et al.*, 2006) گزارش
کرده‌اند.

Comadaran *et al.* (2009) در نتایج بررسی‌های
خود گزارش کردند، کاهش عدم تعادل پیوستگی در فاصله
۳/۲ سانتی‌مورگانی رخ می‌دهد که احتمال دارد به دلیل
وجود رقم‌های بومی در جمعیت مورد بررسی بوده باشد.
Caldwell *et al.* (2006). نشان دادند، عدم تعادل پیوستگی
در رقم‌های بومی نسبت به رقم‌های ایت با سرعت بیشتری
کاهش می‌یابد این پژوهش نشان داد، میانگین عدم تعادل
پیوستگی در فاصله بیش از ۵ سانتی‌مورگان ناچیز است، به
طوری که شاخص r^2 مربوط به ۷۴ درصد از جفت-
نشانگرهای با پیوستگی زیاد (با فاصله کمتر از ۵
سانتی‌مورگان) معنی‌دار بود. با این وجود ۱۵ درصد از
جفت‌نشانگرهای مستقل (با فاصله بیش از ۵۰
سانتی‌مورگان) عدم تعادل پیوستگی معنی‌دار از خود نشان
دادند. این امر بیانگر تغییرپذیری دینامیک عدم تعادل در
طول کروموزوم‌هاست (Pasam *et al.*, 2012) و نشان می-
دهد، افزون بر پیوستگی عامل‌های دیگری نیز بر میزان
عدم تعادل در طول کروموزوم تأثیر می‌گذارند. میانگین

جوهای زمستانه نسبت به جوهای بهاره بیشتر تحت تأثیر
مورفولوژی سنبله است (Malysheva-Otto *et al.*, 2006).
میزان شاخص‌های تنوع (PIC، نی و شانون) در بین
کروموزوم‌های مختلف و همچنین در زیرجمعیت‌های
مختلف متغیر بود. در بین کروموزوم‌های مختلف، کمترین
میزان مربوط به کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵ و بیشترین
میزان مربوط به کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷ بود. این نتایج
با نتایج Rostoks *et al.* (2006) که کروموزوم شماره ۶ را
متنوع‌ترین کروموزوم گزارش کرده‌اند، مطابقت نداشت.
میانگین شاخص‌های تنوع در رقم‌های دوردیفه کمتر از
رقم‌های شش ردیفه بود که با نتایج Pasam *et al.* (2012)
همانگی داشت. در اروپا رقم‌های دو ردیفه برای
کاربردهای صنعتی و به‌ویژه تولید مالت کشت و کار می‌شود.
کیفیت مالت صفتی کمی است و استفاده از تعداد محدود
والدین در برنامه‌های بهنژادی که به‌منظور افزایش کیفیت
مالت انجام می‌گیرد، باعث کاهش تنوع ژنتیکی رقم‌های
دوردیفه و تشکیل زیرجمعیت مجزا شده است
(Melchinger *et al.*, 1994).

بر پایه تجزیه واریانس مولکولی شش ناحیه ژنومی
(روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۶ و ۷) که انتظار
می‌رود باعث تمایز زیرجمعیت‌ها شده باشد، شناسایی شد.
جستجو در بانک‌های اطلاعاتی نشان داد، این نواحی ژنومی
متناظر با ژن‌هایی است که در مورفولوژی سنبله نقش
دارند. این نتایج مطابقت خوبی با نتایج Pasam *et al.* (2012)
Shahinnia *et al.* (2009) داشت تجزیه واریانس
مولکولی، ۴ ژن از ۵ ژن بالا را آشکار کرد و تنها ژن *vrs2*
روی کروموزوم ۵ مشاهده نشد. کروموزوم شماره ۶ در
فاصله ۶۳-۶۰ سانتی‌مورگانی و کروموزوم ۷ در فاصله ۷۰
سانتی‌مورگانی بیشترین میزان F_{st} را از خود نشان دادند.

مراجعه به بانک اطلاعاتی
Grain Gene^۱ نشان داد، در این فاصله‌ها دو کیوتی‌ال
مربوط به صفات تعداد دانه در سنبله (QKps.BIKy-6H) و
وزن دانه (QGwe.HaTR-7H.2) قرار دارد. دو صفتی که در
جوهای دوردیفه و شش ردیفه کامل متمایز از یکدیگرند.
در جوهای شش ردیفه به واسطه بارور شدن سنبله‌های
جانبی تعداد دانه در سنبله نزدیک به سه برابر و همچنین

1. <http://www.graingenes.org>

جمعیت مورد ارزیابی باید تنوع ژنتیکی و فنوتیپی بالایی داشته باشد. در این پژوهش ۳۵۱۴ نشانگر اس.ان.پی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت استفاده شد. نتایج این پژوهش نشان داد، نشانگرهای مورد استفاده پلی مورفیسم خوبی دارند. در این پژوهش روش‌های متفاوتی برای تعیین ساختار به کار گرفته و نشان داده شد، در جمعیت مورد بررسی این پژوهش، مورفولوژی سنبله عامل ایجاد ساختار است به طوری که جمعیت بر پایه دوردیفه و یا شش ردیفه بودن به دو گروه کامل جداگانه تقسیم شدند. جفت‌نشانگرهایی که در فاصله کمتر از ۵ سانتی مورگان قرار دارند و پیوستگی زیادی با یکدیگر دارند، بیشترین عدم تعادل را بر روی هر هفت کروموزوم جو از خود نشان می‌دهند. عدم تعادل پیوستگی از کروموزومی به کروموزوم دیگر متغیر بود، افزون بر این در طول کروموزوم نیز تغییر فراوانی داشت.

عدم تعادل پیوستگی درون زیرگروه‌ها بیشتر از عدم تعادل موجود در کل جمعیت بود. این امر برخلاف این واقعیت است که وجود ساختار در جمعیت باعث افزایش عدم تعادل می‌شود، با این وجود می‌توان این افزایش عدم تعادل درون زیرجمعیت‌ها را به کاهش اندازه جمعیت و در پی آن افزایش خویشاوندی افراد نسبت داد. در این تحقیق عدم تعادل در رقم‌های دوردیفه با سرعت کمتری نسبت به رقم‌های شش ردیفه کاهش یافت. الگوی متفاوت کاهش عدم تعادل در زیرجمعیت‌ها احتمال دارد به دلیل تفاوت در گذشته اصلاحی^۱ رقم‌های دوردیفه و شش ردیفه باشد (Flint-Garcia *et al.*, 2003) به‌ویژه اینکه جمعیت مورد استفاده متشکل از رقم‌های اروپایی بودند و رقم‌های دوردیفه به دلیل کاربرد آن‌ها در صنایع مالت‌سازی بیشتر مورد توجه هستند.

نتیجه‌گیری کلی

برای دستیابی به نتایج قابل اطمینان در برنامه‌های اصلاحی،

1. Breeding history

REFERENCES

- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. & Daly, M. (2005). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21(2), 263-265.
- Bolot, S., Abrouk, M., Masood-Quraishi, U., Stein, N., Messing, J., Feuillet, C. & Salse, J. (2009). The 'inner circle' of the cereal genomes. *Current opinion in plant biology*, 12(2), 119-125.
- Caldwell, K. S., Russell, J., Langridge, P. & Powell, W. (2006). Extreme population-dependent linkage disequilibrium detected in an inbreeding plant species, *Hordeum vulgare*. *Genetics*, 172(1), 557-567.
- Chen, C., Li, S., Wang, S., Liu, H., Deng, Q., Zheng, A., Zhu, J., Wang, L. & Li, P. (2011). Assessment of the Genetic Diversity and Genetic Structure of Rice Core Parent Guichao 2, its Parents and Derivatives. *Plant Science*, 6, 66-76.
- Comadran, J., Thomas, W., Van Eeuwijk, F., Ceccarelli, S., Grandi, S., Stanca, A., Pecchioni, N., Akar, T., Al-Yassin, A. & Benbelkacem, A. (2009). Patterns of genetic diversity and linkage disequilibrium in a highly structured *Hordeum vulgare* association-mapping population for the Mediterranean basin. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(1), 175-187.
- Edwards, K., Mogg, R. & Henry, R. (2001). Plant genotyping by analysis of single nucleotide polymorphisms. In: R. J. Henry (Ed.). *Plant genotyping: the DNA fingerprinting of plants* (pp. 1-13). UK: CABI.
- Evanno, G., Regnaut, S. & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.
- Excoffier, L. & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10(3), 564-567.
- Ferreira, J. R., Pereira, J. F., Turchetto, C., Minella, E., Consoli, L. & Delatorre, C. A. (2016). Assessment of genetic diversity in Brazilian barley using SSR markers. *Genetics and molecular biology*, 39(1), 86-96.
- Flint-Garcia, S. A., Thornsberry, J. M. & IV, B. (2003). Structure of Linkage Disequilibrium in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54(1), 357-374.
- Flint-Garcia, S. A., Thuillet, A. C., Yu, J., Pressoir, G., Romero, S. M., Mitchell, S. E., Doebley, J., Kresovich, S., Goodman, M. M. & Buckler, E. S. (2005). Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection. *The plant journal*, 44(6), 1054-1064.
- Gupta, P. K. & Varshney, R. K. (2005). Cereal genomics: an overview. *Cereal Genomics* (pp. 1-18): Springer.
- Hamblin, M. T., Close, T. J., Bhat, P. R., Chao, S., Kling, J. G., Abraham, K. J., Blake, T., Brooks, W. S., Cooper, B. & Griffey, C. A. (2010). Population structure and linkage disequilibrium in US barley germplasm: implications for association mapping. *Crop Science*, 50(2), 556-566.

14. Hammer, Ø., Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 1-9.
15. Jacoby, W. G. (2000). Loess:: a nonparametric, graphical tool for depicting relationships between variables. *Electoral Studies*, 19(4), 577-613.
16. Jain, S. M., Brar, D. S. & Ahloowalia, B. S. (2002). *Molecular Techniques in Crop Improvement*. Kluwer Academic Pub.
17. Kanazin, V., Talbert, H., See, D., DeCamp, P., Nevo, E. & Blake, T. (2002). Discovery and assay of single-nucleotide polymorphisms in barley (*Hordeum vulgare*). *Plant molecular biology*, 48(5-6), 529-537.
18. Kraakman, A. T., Niks, R. E., Van den Berg, P. M., Stam, P. & Van Eeuwijk, F. A. (2004). Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*, 168(1), 435-446.
19. Laurentin, H. (2009). Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(2), 277-292.
20. Malysheva-Otto, L. V., Ganal, M. W. & Röder, M. S. (2006). Analysis of molecular diversity, population structure and linkage disequilibrium in a worldwide survey of cultivated barley germplasm (*Hordeum vulgare* L.). *BMC genetics*, 7(1), 6.
21. Mandel, J. R., Nambeesan, S., Bowers, J. E., Marek, L. F., Ebert, D., Rieseberg, L. H., Knapp, S. J. & Burke, J. M. (2013). Association Mapping and the Genomic Consequences of Selection in Sunflower. *PLoS genetics*, 9(3), e1003378.
22. Mayer, K. F., Taudien, S., Martis, M., Šimková, H., Suchánková, P., Gundlach, H., Wicker, T., Petzold, A., Felder, M. & Steuernagel, B. (2009). Gene content and virtual gene order of barley chromosome 1H. *Plant Physiology*, 151(2), 496-505.
23. Melchinger, A. E., Graner, A., Singh, M. & Messmer, M. M. (1994). Relationships among European barley germplasm: I. Genetic diversity among winter and spring cultivars revealed by RFLPs. *Crop Science*, 34(5), 1191-1199.
24. Nasu, S., Suzuki, J., Ohta, R., Hasegawa, K., Yui, R., Kitazawa, N., Monna, L. & Minobe, Y. (2002). Search for and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in rice (*Oryza sativa*, *Oryza rufipogon*) and establishment of SNP markers. *DNA research*, 9(5), 163-171.
25. Nour-Mohammadi, G., Siadat, A. & Kashani, A. (2004). *Cereal Crops* (Vol. 1). Iran. Shahid Chamran University.
26. Pasam, R. K., Sharma, R., Malosetti, M., van Eeuwijk, F. A., Haseneyer, G., Kilian, B. & Graner, A. (2012). Genome-wide association studies for agronomical traits in a world wide spring barley collection. *BMC Plant Biology*, 12(1), 16.
27. Pasam, R. K., Sharma, R., Walther, A., Özkan, H., Graner, A. & Kilian, B. (2014). Genetic diversity and population structure in a legacy collection of spring barley landraces adapted to a wide range of climates. *PLoS One*, 9(12), e116164.
28. Paschou, P., Ziv, E., Burchard, E. G., Choudhry, S., Rodriguez-Cintron, W., Mahoney, M. W. & Drineas, P. (2007). PCA-correlated SNPs for structure identification in worldwide human populations. *PLoS genetics*, 3(9), 1672-1686.
29. Pritchard, J. K., Stephens, M. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
30. Ramsay, L., Comadran, J., Druka, A., Marshall, D. F., Thomas, W. T., Macaulay, M., MacKenzie, K., Simpson, C., Fuller, J. & Bonar, N. (2011). INTERMEDIUM-C, a modifier of lateral spikelet fertility in barley, is an ortholog of the maize domestication gene TEOSINTE BRANCHED 1. *Nature genetics*, 43(2), 169-172.
31. Rostoks, N., Ramsay, L., MacKenzie, K., Cardle, L., Bhat, P. R., Roose, M. L., Svensson, J. T., Stein, N., Varshney, R. K. & Marshall, D. F. (2006). Recent history of artificial outcrossing facilitates whole-genome association mapping in elite inbred crop varieties. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(49), 18656-18661.
32. Schulte, D., Close, T. J., Graner, A., Langridge, P., Matsumoto, T., Muehlbauer, G., Sato, K., Schulman, A. H., Waugh, R. & Wise, R. P. (2009). The international barley sequencing consortium—at the threshold of efficient access to the barley genome. *Plant Physiology*, 149(1), 142-147.
33. Shahinnia, F., Ebrahim Seyed-Tabatabaei, B., Sato, K., Pourkheirandish, M. & Komatsuda, T. (2009). Mapping of QTL for intermedium spike on barley chromosome 4H using EST-based markers. *Breeding science*, 59(4), 383-390.
34. Sreenivasulu, N., Graner, A. & Wobus, U. (2008). Barley genomics: an overview. *International journal of plant genomics*, 2008, 1-13.

35. Stracke, S., Presterl, T., Stein, N., Perovic, D., Ordon, F. & Graner, A. (2007). Effects of introgression and recombination on haplotype structure and linkage disequilibrium surrounding a locus encoding Bymovirus resistance in barley. *Genetics*, 175(2), 805-817.
36. Tondelli, A., Xu, X., Moragues, M., Sharma, R., Schnaithmann, F., Ingvarsdson, C., Manninen, O., Comadran, J., Russell, J. & Waugh, R. (2013). Structural and temporal variation in genetic diversity of European spring two-row barley cultivars and association mapping of quantitative traits. *The plant genome*, 6(2), 1-14.
37. Wicker, T., Narechania, A., Sabot, F., Stein, J., Vu, G. T., Graner, A., Ware, D. & Stein, N. (2008). Low-pass shotgun sequencing of the barley genome facilitates rapid identification of genes, conserved non-coding sequences and novel repeats. *BMC genomics*, 9(1), 518.
38. Wicker, T., Schlagenhauf, E., Graner, A., Close, T., Keller, B. & Stein, N. (2006). 454 sequencing put to the test using the complex genome of barley. *BMC genomics*, 7(1), 275.
39. Yeh, F. C., Yang, R., Boyle, T., Ye, Z. & Mao, J. X. (1999). POPGENE, version 1.32: the user friendly software for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada*.
40. Zhang, L. Y., Marchand, S., Tinker, N. A. & Belzile, F. (2009). Population structure and linkage disequilibrium in barley assessed by DArT markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(1), 43-52.

Archive of SID