

## تحقیقات غلات

دوره ششم / شماره دوم / تابستان ۱۳۹۵ (۲۰۱-۲۱۴)

# بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌ای از ژرم‌پلاسم جو وحشی (*Hordeum spontaneum*) با استفاده از نشانگر مولکولی SSR

عبدالمطلب نام‌آور<sup>۱</sup>، زهرا طهماسبی<sup>۲\*</sup>، جواد عرفانی مقدم<sup>۳</sup>، فواد فاتحی<sup>۴</sup>، زینب یوسفی<sup>۱</sup> و بتول زارعی<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۴

تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۲۷

### چکیده

تعیین سطح تنوع ژنتیکی و روابط بین ژنوتیپ‌ها جهت شناسایی والدین مناسب برای اهداف اصلاحی مختلف ضروری است. در این تحقیق، روابط ژنتیکی ۵۵ نمونه از ژرم‌پلاسم جو وحشی اسپونتانوم (*Hordeum spontaneum*) متعلق به مناطق مختلف جهان با استفاده از ۱۴ جفت آغازگر ریزماهوره بررسی شد. در مجموع ۵۳ آلل با میانگین ۵/۲ آلل به ازای هر جفت آغازگر تکثیر شد. میانگین فراوانی آلل رایج ۰/۵۱ بود. میزان اطلاعات چند شکلی در دامنه ۰/۳۷ تا ۰/۸۱ با میانگین ۰/۶۳ و تنوع ژنی یا هتروزیگوسیتی مورد انتظار در محدوده ۰/۳۸ تا ۰/۸۲ با میانگین ۰/۶۴ بود. نتایج حاصل از ارزیابی شاخص‌های تنوع نشان داد که نشانگرهای Bmag007، EBmac0701 و Bmac134 مناسب‌ترین نشانگرها برای تفکیک ژنوتیپ‌ها بودند. تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA بر اساس داده‌های مولکولی، ژنوتیپ‌ها را به شش گروه تقسیم کرد. ژنوتیپ‌های موجود در هر یک از گروه‌ها، عموماً از یک منطقه جغرافیایی خاص جمع‌آوری شده بودند. در تعدادی از نمونه‌ها نیز تطابق بین توزیع جغرافیایی با گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد. بر اساس نتایج، بیشترین شباهت را ژنوتیپ‌های سوریه و اردن و کمترین شباهت را نمونه‌های قزاقستان با این دو کشور داشتند. نتایج این تحقیق وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در نمونه‌های جو وحشی مورد مطالعه را نشان داد که با شناسایی ژن‌های مفید، می‌توان از آنها جهت اصلاح و بهبود ارقام زراعی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، چندشکلی، هتروزیگوسیتی

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۳- استادیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۴- استادیار، گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۵- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

\* نویسنده مسئول: [z.tahmasebi@ilam.ac.ir](mailto:z.tahmasebi@ilam.ac.ir)

## مقدمه

جو یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی است و تنوع بالایی در سازگاری و نوع استفاده دارد. داشتن ژنوم کوچک، دیپلوئید و خودگشن بودن جو باعث شده تا تحقیقات فیزیولوژی و ژنتیکی زیادی را به خود اختصاص دهد (Shakhatreh *et al.*, 2009). جو وحشی، *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum* C. Koch والد جو زراعی است که هیبرید بین آنها زایا می‌باشد. این گیاه به عنوان منبع ژن‌های مقاوم در برابر تنش‌ها و نیز ایجاد تنوع زیستی در جو زراعی استفاده می‌شود (Matus and Hayes, 2002).

با توجه به این که اساس تحقیقات به‌نژادی گیاهان زراعی بر پایه تنوع ژنتیکی وسیع استوار است، بدون دسترسی به تنوع به‌نژادگر شانس موفقیت چندان برای تولید و ارایه ارقام اصلاح شده جدید نخواهد داشت (Nakhjavan *et al.*, 2012). برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌توان از انواع نشانگرها استفاده کرد. در این راستا شاید اساسی‌ترین و مفیدترین ابزار برای درک شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنتیکی گیاهان، نشانگرهای DNA باشند که تفاوت‌های افراد را در سطح ترتیب نوکلئوتیدی DNA مشخص می‌سازند. نشانگرهای ریزماهوره یا توالی‌های تکراری ساده (SSR, Simple Sequence Repeat) که از نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز هستند، موارد استفاده مختلفی در ژنتیک و اصلاح نباتات دارند (Mohamadi, 2001). تکنیک SSR، شیوه قدرتمند، سریع، ساده، قابل تکثیر و ارزان است. نشانگرهای SSR به‌دلیل سرعت، دقت، سهولت کار، وراثت هم‌بارز و سطح بالای چند شکلی به‌عنوان نشانگر انتخابی برای انگشت نگاری DNA برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین ارتباط دقیق وارثه‌ها در بسیاری از گونه‌ها به‌کار گرفته شده است (Frahani and Arzani, 2004).

تنوع ژنتیکی و ارتباط نشانگرهای ژنتیکی با صفات مرفولوژیک در جو وحشی با استفاده از نشانگرهای زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه‌ای، تنوع ژنتیکی بین ۲۶ رقم جو با استفاده از ۲۶ نشانگر ریزماهوره و ۳۶ نشانگر RAPD بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگرهای ریزماهوره به خوبی قادرند ژنوتیپ‌ها را از یکدیگر تفکیک کنند (Jilal *et al.*, 2008). در تحقیقی دیگر تنوع ژنتیکی سه گروه از ژرم‌پلاسم جو (گونه اسپونتانئوم، گونه زراعی و لاین‌های پیشرفته منتخب) با

استفاده از نشانگرهای ریزماهوره مورد بررسی قرار گرفت (Matus and Haye, 2002). در گونه اسپونتانئوم میانگین تعداد آلل در هر جایگاه برابر با ۱۰/۳، در گونه زراعی، ۸/۳ و در لاین‌های اصلاحی الیت ۸/۵ آلل برای هر جایگاه بود. همچنین به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۹۴ نمونه جو وحشی اسپونتانئوم از ۱۰ جمعیت متفاوت (۸ تا ۱۰ نمونه از هر جمعیت) جمع‌آوری شده از مناطق اکولوژیکی و جغرافیایی مختلف در فلسطین اشغالی از ۸ جفت آغازگر AFLP استفاده شد و در مجموع ۲۰۴ مکان شناسایی شدند که ۱۹۸ (۹۳ درصد) از آنها چندشکل بودند (Zahravi *et al.*, 2011). در مطالعه‌ای دیگر برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۸۳ ژنوتیپ جو زراعی و ۲۱ نمونه جو وحشی (۱۱ نمونه از گونه *H. spontaneum* و ۱۰ نمونه از گونه *H. agriocrithon*) از بانک ژن ایکاردا (ICARDA) از ۲۰ جفت نشانگر SSR و EST-SSR استفاده شد. بر اساس نتایج، ۱۹ نشانگر دارای چندشکلی بودند و در مجموع ۴۰۳ آلل با میانگین ۲۰/۲ آلل به ازای هر جایگاه تکثیر کردند و تعداد آلل‌ها از ۵ تا ۳۷ آلل متغیر بود (Jilal *et al.*, 2008). در تحقیق دیگری، به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۹۰ نمونه جو وحشی شامل ۴۵ گونه وحشی از تبت و چین (شامل ۲۸ گونه وحشی اسپونتانئوم و ۱۷ گونه جو وحشی شش ردیفه *H. vulgare* و ۴۵ گونه وحشی از کشورهای مختلف در خاورمیانه از ۱۰ نشانگر ISSR و ۱۱ نشانگر ریزماهوره استفاده شد. در نشانگر ISSR از مجموع ۹۱ آلل تولید شده، ۷۱ آلل (۸۶/۸۱ درصد) دارای چندشکلی بودند. در نشانگر ریزماهوره از مجموع ۱۰۰ آلل تولید شده ۷۸ آلل (۷۸ درصد) چندشکل بودند. نتایج بیانگر وجود شواهد جدیدی برای تنوع خاستگاه جو بود (Wang and Ding, 2009). در آزمایش دیگری، تنوع ژنتیکی کلکسیون از ژرم‌پلاسم جو ایکاردا بررسی شد. این کلکسیون شامل ۱۸۵ رقم جو زراعی (*H. vulgare*) و ۳۸ ژنوتیپ جو وحشی (*H. spontaneum*) بود. در این تحقیق با استفاده از ۶۸ نشانگر SNP در مجموع ۱۴۳ آلل شناسایی شد. تعداد آلل‌های ریزماهوره در هر جایگاه ژنی بین ۳ تا ۲۲ آلل متغیر بود. محتوای اطلاعات چند شکلی برای نشانگرهای ریزماهوره و SNP به ترتیب ۰/۶۳ و ۰/۳۸ بود (Shakhatreh *et al.*, 2009). نتایج حاصل از ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۰۳ نمونه جو وحشی اسپونتانئوم به همراه ۲۹ ژنوتیپ جو زراعی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف

زمانی که گیاهچه‌ها در مرحله دو تا سه برگه بودند، از آن‌ها نمونه‌های برگه به اندازه ۵ تا ۱۰ سانتی‌متر انتخاب و DNA آنها استخراج شد. DNA ژنومی بر اساس روش سقای معروف و همکاران (Saghai-Marouf *et al.*, 1994) در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه ایلام استخراج شد. به منظور تعیین کمیت و کیفیت DNA ژنومی استخراج شده از دستگاه اسپکتوفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد استفاده شد.

از آغازگرهای ریزماهوره گزارش شده توسط رامسی و همکاران (Ramsay *et al.*, 2000) تعداد ۱۴ جفت آغازگر برای انجام واکنش PCR انتخاب و سنتز شدند (جدول ۲). واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Bio-Rad در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. اجزای واکنش PCR شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی (۵۰-۴۰ نانوگرم DNA)، ۲ میکرولیتر بافر ۱۰X PCR، ۰/۴ میکرولیتر dNTP ۱ میلی مولار، ۰/۷ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشت (۱۰ pmol/μl)، ۱/۵ واحد (۰/۳ میکرولیتر) آنزیم DNA پلیمرز Taq، ۱/۸ میکرولیتر کلرید منیزیم ۲۰ میلی مولار و ۱۲/۱ میکرولیتر آب استریل دوبار تقطیر و حجم واکنش ۲۰ میکرولیتر بود. همچنین چرخه‌های حرارتی برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه و به دنبال آن ۱۰ چرخه که هر چرخه شامل مرحله واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال در دمای اتصال هر آغازگر (جدول ۲) به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه و در ادامه آن ۲۵ چرخه که هر چرخه شامل مرحله واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال در دمای اختصاصی هر پرایمر به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه بود و در انتها تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه ادامه یافت.

محصولات PCR روی ژل آگارز ۲/۵ درصد بارگذاری شدند. رنگ آمیزی ژل با استفاده از اتیدیم بروماید انجام شد و سپس عکسبرداری از آن با دستگاه ژل نگار (Gel documentation) و زیر نور UV صورت گرفت.

اردن، نشان داد که تنوع بالایی در صفات مورفولوژیکی و زراعی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه وجود دارد. نتایج این تحقیق نشان دهنده تنوع ژنتیکی بسیار بالا در داخل جمعیت‌ها نسبت به بین جمعیت‌ها بود (Varshney *et al.*, 2005). در مطالعه ای دیگر از ۵۲ نشانگر ریزماهوره برای بررسی تنوع ژنتیکی ۳۳ رقم جو وحشی و ۵۶ رقم جو بومی، که عمدتاً از مناطق مختلف چین جمع آوری شده بودند، به همراه یک رقم زراعی استفاده شد. در این تحقیق متوسط میزان اطلاعات چندشکلی ۰/۵۴۶ بود که این میزان برای جوهای وحشی از صفر تا ۰/۸۱۳ با متوسط ۰/۵۴۳ و برای جوهای بومی در محدوده صفر تا ۰/۷۹۰ با متوسط ۰/۴۹ متغیر بود (Guo *et al.*, 2009). همچنین تنوع ژنتیکی ۷۳ نمونه جو ایران از دو گونه *H. vulgare* و *H. spontaneum* با استفاده از ۱۵ جفت نشانگر ریزماهوره ارزیابی شد که در مجموع ۷۴ آلل در دو گونه *H. vulgare* و *H. spontaneum* با میانگین ۴/۵۶ آلل برای آغازگرها در دو گونه مشاهده شد. نتایج نشان داد که نشانگرهای ریزماهوره برای بررسی تنوع در هر دو گونه *H. spontaneum* و *H. vulgare* سودمند هستند (Ebrahimi *et al.*, 2009).

متأسفانه در داخل کشور تحقیقات چندانی پیرامون تنوع ژنتیکی ژرم پلاسما جو وحشی اسپونتانوم انجام نشده است و گزارش‌های موجود بر جوهای زراعی متمرکز بوده‌اند (Zahravi *et al.*, 2011). با توجه به نقش تنوع در پیشبرد برنامه‌های به نژادی (Mohamadi, 2001) و اهمیت وارثه‌های وحشی در ایجاد تنوع، این تحقیق اجرا شد که هدف از آن، دستیابی به میزان تنوع موجود در ژرم پلاسما جهانی جو وحشی اسپونتانوم جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی بود.

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده شامل بذره‌های ۵۵ نمونه از ژرم پلاسما جو وحشی اسپونتانوم (۴۹ نمونه دریافت شده از ایکاردا و ۶ نمونه جمع‌آوری شده از غرب و شمال غرب ایران (جدول ۱) بودند که پس از ضدعفونی در گلخانه گروه باغبانی دانشگاه ایلام، در مهرماه سال ۱۳۹۱ کشت شدند.

جدول ۱- مشخصات نمونه‌های جو وحشی استفاده شده در این پژوهش

Table 1. Characteristics of wild Barley used in this research

ردیف Row	کد نمونه Accession number	محل جمع‌آوری Collection location		طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude
		کشور Country	استان Province		
1	IG 38667	افغانستان Afghanistan	قندهار Kandahar	E065 43	N31 37
2	IG 120790	ترکمنستان Turkmenistan	کراسنووودسک Krasnvvdsk	E056 16 44	N38 25 55
3	IG 38654	افغانستان Afghanistan	فاریاب Faryab	E063 59	N35 44
4	IG 38669	افغانستان Afghanistan	سمنگان Samangan	E068 01	N36 16
5	IG 40155	ازبکستان Uzbekistan	کاشکادریا Kashkadrya	E66 50	N38 57
6	IG 117888	سوریه Syria	ایدلیب Aydlyb	E36 46 38	N36 12 30
7	IG 120791	ترکمنستان Turkmenistan	کراسنووودسک Krasnvvdsk	E56 15	N38 26
8	IG 40154	ازبکستان Uzbekistan	کاشکادریا Kashkadrya	E66 28	N38 48
9	IG 119407	سوریه Syria	هومس Hvms	E36 44 06	N34 51 58
10	IG 144161	اردن Jordan	السلالت Alsalt	E3574150	N3206391
11	IG 39912	سوریه Syria	الیپو Alypv	E36 42 23	N36 39 30
12	IG 39838	ترکیه Turkey	ایزمار Ayzmar	E27 20	N39 06
13	IG 39919	سوریه Syria	سویديا Svydya	E36 44 30	N32 36 00
14	IG 120794	ترکمنستان Turkmenistan	عشق‌آباد Ashgabat	E57 07	N38 35
15	IG 120799	قزاقستان Kazakhstan	چیمکنت Chymknt	E69 10 16	N41 26 56
16	IG 39565	فلسطین Palestine	بانک غربی West Bank	E35 15 37	N31 46 20
17	IG 140189	تاجیکستان Tajikistan	کولیب Kulyab	7018093	3782496
18	IG 144170	اردن Jordan	السلالت Alsalt	E3574527	N3210835
19	IG 137596	ارمنستان Armenia	ارارت Arart	E45 22	N39 47
20	IG 120792	ترکمنستان Turkmenistan	عشق‌آباد Ashgabat	E56 50	N38 30
21	IG 120920	روسیه Russia	داغستان Dagestan	E48 16	N42 03

Table 1. Continued

جدول ۱- ادامه

ردیف Row	کد نمونه Accession number	محل جمع آوری Collection location		طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude
		کشور Country	استان Province		
22	IG 140367	تاجیکستان Tajikistan	کولیاپ Kulyab	6960874	3833862
23	IG 38821	ترکمنستان Turkmenistan	بالکان Balkan	E55 17	N38 00
24	IG 120793	ترکمنستان Turkmenistan	عشق آباد Ashgabat	E56 50	N38 30
25	IG 129152	عراق Iraq	نینوا Nineveh	E43 08	N36 21
26	IG 38936	فلسطین Palestine	بانک غربی West Bank	E35 06	N32 24
27	IG 142356	تاجیکستان Tajikistan	سوغاد Svghad	E68 53 35	N39 48 04
28	IG 40153	ازبکستان Uzbekistan	کاشکا دریا Kashka Darya	E66 50	N38 16
29	IG 39881	سوریه Syria	هومس Hvms	E38 21 22	N34 34 10
30	IG 144157	اردن Jordan	تفیلا Tfyla	E35.63694	N30.68106
31	IG 39846	سوریه Syria	هومس Hvms	E38 52 07	N35 09 42
32	IG 119447	سوریه Syria	ایدلیب Aydlyb	E37 01 20	N35 32 45
33	IG 38657	افغانستان Afghanistan	قندهار Kandahar	E65 29	N31 40
34	IG 121853	سوریه Syria	سویدیا Svydya	E36 46 25	N32 37 30
35	IG 139120	اردن Jordan	ایربید Ayrbyd	E35 49478	N32 23378
36	IG 139141	اردن Jordan	الکراک Alkrak	E35 43341	N31 19786
37	IG 39921	سوریه Syria	داماسیوس Damasyvs	E36 04 00	N33 37 00
38	IG 142486	تاجیکستان Tajikistan	سوغاد Svghad	E69 13 57	N40 07 30
39	IG 119438	سوریه Syria	هومس Hvms	E36 42 09	N35 00 48
40	IG 119458	سوریه Syria	ایدلیب Aydlyb	E36 26 58	N35 37 55
41	IG 120796	ازبکستان Uzbekistan	دژیزاک Dzhyzak	E67 36	N40 01
42	IG 39443	سوریه Syria	-	E038 00	N35 00
43	IG 40152	ازبکستان Uzbekistan	سورخان دریا Svrkhan darya	E67 00	N37 48

Table 1. Continued

جدول ۱- ادامه

ردیف Row	کد نمونه Accession number	محل جمع آوری Collection location		طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude
		کشور Country	استان Province		
44	IG 119420	سوریه Syria	هومس Hvms	E36 32 59	N34 53 04
45	IG 140352	تاجیکستان Tajikistan	کولیاب Kulyab	E 6983140	N 3825927
46	IG 39489	سوریه Syria	-	E038 00	N35 00
47	IG 140073	تاجیکستان Tajikistan	دوشنبه Dushanbe	E 6870809	3837815
48	IG 120798	ازبکستان Uzbekistan	-	-	-
49	IG 140302	تاجیکستان Tajikistan	کولیاب Kulyab	E 6979325	N 3809862
50	-	ایران Iran	کردستان Kurdistan	E46 57 52	N35 0 55
51	-	ایران Iran	همدان Hamedan	E48 25 25	N24 58 24
52	-	ایران Iran	کرمانشاه Kermanshah	E48 01 39	N24 32 08
53	-	ایران Iran	آذربایجان شرقی East Azarbaijan	E47 28 56	N38 22 04
54	-	ایران Iran	لرستان Lorestan	E48 00 45	N24 01 28
55	-	ایران Iran	کرمانشاه Kermanshah	E47 02 44	N24 25 01

دندروگرام‌های ترسیم شده از طریق تجزیه کلاستر با ماتریس‌های ضرایب عدم تشابه، ضرایب کوفتینک محاسبه شدند که ضرایب کوفنتیک و آزمون مانتل این ضرایب نشان داد بیشترین ضریب مربوط به ماتریس تطابق ساده و الگوریتم UPGMA است. بنابراین با کمک نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 تجزیه کلاستر به روش UPGMA برای گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از ماتریس تشابه تطابق ساده انجام شد. همچنین با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 و ماتریس تطابق ساده تجزیه به مختصات اصلی انجام گرفت.

برای تعیین روابط ژنتیکی نمونه‌ها امتیازدهی باندها با کد صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) صورت گرفت. میزان اطلاعات چندشکل (PIC) با استفاده از رابطه  $PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2$  محاسبه شد که در آن k تعداد آلل‌ها می‌باشد. شاخص نشانگری (MI) نیز با حاصل ضرب PIC در تعداد آلل‌های چندشکل) برای هر نشانگر با استفاده از نرم‌افزار Excel محاسبه شد. برای محاسبه هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی قابل انتظار، تعداد آلل‌های موثر، شاخص تثبیت و ضریب شانون از نرم‌افزار PopGen32 استفاده شد. به منظور گزارش بهترین دندوگرام برای گروه‌بندی نمونه‌ها، میزان انطباق

جدول ۲- آغازگرهای ریزماهواره مورد بررسی در این تحقیق

Table 2. The studied SSR markers in this research

نام آغازگر Name	مکان نشانگر Location	دمای اتصال TM	توالی نشانگر Primer sequence	
			توالی رفت Forward sequence	توالی برگشت Backward sequence
			Bmac0399	1H
Bmac0032	1H	60	CCATCAAAGTCCGGCTAG	GTCGGGCCTCATACTGAC
Bmac134	2H	55	CCAAGTGAAGTCGATCTCG	CTTCGTTGCTTCTCTACCTT
Bmag0125	2H	55	AATTAGCGAGAACAATCAC	AGATAACGATGCACCACC
Bmac0067	3H	55	AACGTACGAGCTCTTTTCTA	ATGCCAACTGCTTGTGTTAG
Bmag6	3H	58	TTAAACCCCCCTCTAG	TGCAGTTACTATCGCTGATTTAGC
EBmac0701	4H	55	ATGATGAGAAGTCTTCACCC	TGGCACTAAAGCAAAAGAC
Bmac310	4H	55	CTACCTCTGAGATATCATGCC	ATCTAGTGTGTGTTGCTTCCT
Bmag0223	5H	58	TTAGTCAACCTCAACGGT	CCCCTAACTGCTGTGATG
GBM1483	5H	55	CAGTGATATGGACTACGGCG	CTTGTCTCCACCTCGAAGC
EBmac602	6H	58	GATTGGAGCTTCGGATCAC	CCGTCTAGGGAGAGGTTCTC
Bmag0173	6H	58	CATTTTTGTTGGTGACGG	ATAATGGCGGGAGAGACA
Bmag0007	7H	58	TGAAGGAAGAATAAACAACCAACA	TCCCCTATTATAGTGACGGTGTG
Bmag0135	7H	58	ACGAAAGAGTTACAACGGATA	GTTTACCACAGATCTACAGGTG

## نتایج و بحث

2011). در تحقیق دیگر نیز میانگین فراوانی آلل رایج را ۰/۳۱ به دست آوردند (Gang Khanlu *et al.*, 2012). همچنین در مطالعه دیگری بیشترین و کمترین فراوانی آلل رایج را به ترتیب ۰/۱۸۷ و ۰/۲۱ با میانگین ۰/۵۳ محاسبه کردند (Abdollahi Sisi *et al.*, 2012) که با میزان به دست آمده در این مطالعه همخوانی دارد.

میانگین آلل‌های موثر ۳/۰۶ بود که از ۱/۶۰ تا ۵/۳۱ متفاوت بود (جدول ۳). در مطالعه‌ای در ۲۴ رقم جو زراعی با استفاده از ۱۰ جفت نشانگر ریزماهواره، تعداد آلل‌های موثر از ۱/۹۶ تا ۴ آلل برای هر آغازگر گزارش شد (Mojirsheibani *et al.*, 2013) که از مطالعه حاضر کمتر بود. در مقابل، در تحقیق دیگری که با ۶۴ رقم جو زراعی و ۱۴ نشانگر انجام شد، میانگین تعداد آلل‌های موثر ۵/۲۳ محاسبه شد (Haj Mansour *et al.*, 2010) که از مطالعه حاضر بیشتر بود. علت متغیر بودن میزان آلل‌های موثر متفاوت بودن تعداد و نوع ارقام مورد بررسی و همچنین تفاوت در تعداد و نوع نشانگرها است (Mojirsheibani *et al.*, 2013).

محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) دامنه‌ای بین ۰/۳۷ تا ۰/۸۱ با میانگین ۰/۶۲۹ داشت (جدول ۴). نشانگرهای با مقدار PIC بالا برای تمایز ژنوتیپ‌های با خویشاوندی نزدیک مفید هستند. به طور مشابه میزان اطلاعات چندشکلی در مطالعه‌ای در ۲۴ رقم جو بین ۰/۵۶ تا ۰/۸۶ در نوسان بود (Mojirsheibani *et al.*,

از ۱۴ آغازگر ریزماهواره مورد استفاده، ۱۰ آغازگر (۷۱٪) چندشکلی قابل قبولی از خود نشان دادند (جدول ۳). شکل ۱ الگوی باندهای آغازگر EBmac0701 در برخی از ژنوتیپ‌های مورد بررسی را به عنوان نمونه نشان می‌دهد. آغازگرهای چندشکل در مجموع ۵۲ آلل در ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی با میانگین ۵/۲ آلل به ازای هر نشانگر تکثیر کردند. جایگاه ژنی Bmag007 با ۸ آلل و جایگاه‌های ژنی Bmac0399، Bmag0223 و Bmag0125 با ۴ آلل به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل‌ها را تولید کردند (جدول ۳). به طور مشابه در مطالعه دیگری با استفاده از ۱۵ نشانگر ریزماهواره، در مجموع ۷۴ آلل در ۷۳ نمونه از دو گونه جو زراعی و گونه وحشی اسپونتانئوم با میانگین ۴/۵۶ آلل برای آغازگرها محاسبه شد (Ebrahimi *et al.*, 2010). همچنین، در مطالعه تنوع ژنتیکی ۱۱۵ ژرم پلاسما جو با استفاده از ۱۱ جفت نشانگر ریزماهواره در مجموع ۶۶ آلل با میانگین ۶ آلل در هر لوکوس تکثیر شد (Chen *et al.*, 2012). علت تفاوت در تعداد آلل بین پژوهش‌های مختلف می‌تواند به دلیل تعداد متفاوت ژنوتیپ‌ها و آغازگرها و تفاوت در زمینه ژنتیکی ژنوتیپ‌ها باشد (Ramsay *et al.*, 2000).

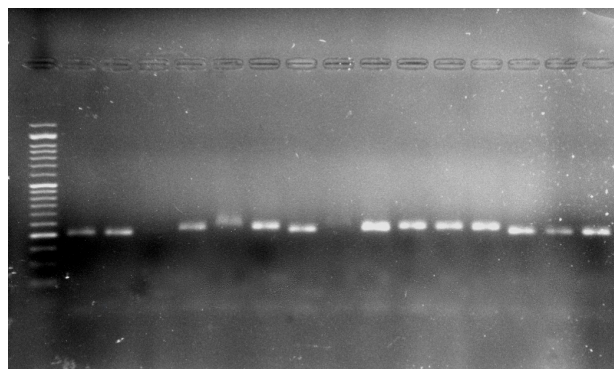
فراوانی آلل رایج از ۰/۲۹ تا ۰/۷۸ با میانگین ۰/۵۱ متغیر بود (جدول ۳). در مطالعه مشابه دیگری، فراوانی آلل رایج بین ۰/۱۸ تا ۰/۹۱ تعیین شد (Haidari *et al.*,

مطالعه‌ای روی ۳۵ لاین و رقم جو زراعی با ۱۹ جفت نشانگر ریزماهواره، هتروزیگوسیتی مشاهده شده از صفر تا ۰/۲۳ با میانگین ۰/۰۱ به دست آمد (Haidari *et al.*, 2011)، که علت کمتر بودن میزان آن از پژوهش حاضر وجود دگرگشتی بیشتر جو اسپونتانوم نسبت به جو زراعی است. در مجموع با توجه به شاخص‌های اندازه گیری شده نشانگرهای Bmag007، EBmac0701 و Bmac134 برای تفکیک ژنوتیپ‌ها مناسب‌ترین نشانگرها شناخته شدند.

تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و با استفاده از ماتریس تشابه تطابق ساده با ضریب کوفنتیک ۰/۷۵، که از لحاظ آماری در سطح یک درصد معنی‌دار بود، انجام شد. بر اساس ماتریس تطابق ساده بیشترین درصد تشابه ۰/۹۴ محاسبه شد که مربوط به ژنوتیپ‌های شماره ۱۲ و ۱۳ به ترتیب با کد IG 39838 و IG 39919 به ترتیب از کشور ترکیه و سوریه و ژنوتیپ‌های شماره ۴۰ و ۳۲ به ترتیب با کد IG 119458 و IG 119447 هر دو از کشور سوریه بود و کمترین میزان تشابه به میزان ۰/۵۵ مربوط به ژنوتیپ‌های شماره ۶ و ۴۷ به ترتیب با کد IG 117888 و IG 140073 به ترتیب از کشور سوریه و تاجیکستان بود (لازم به ذکر است که با توجه بزرگ بودن جدول مربوط به ضرایب تشابه دو به دوی کلیه ژنوتیپ‌ها، از ارائه این جدول خوداری شد).

2013). در مطالعه دیگری نیز میانگین میزان اطلاعات چندشکلی را برای ۱۱۵ نمونه از ژرم‌پلاسم جو، ۰/۷۳۲ گزارش کردند (Chen *et al.*, 2012). مطالعه روی جوهای زراعی و جوهای وحشی اسپونتانوم ایران، میزان PIC در جوهای زراعی را بین ۰/۱۹ تا ۰/۸۰ نشان داد. در حالی که در جوهای وحشی اسپونتانوم این میزان بین ۰/۰۴ تا ۰/۹۱ با متوسط ۰/۶۱ بود (Ebrahimi *et al.*, 2010) که با محتوای اطلاعات چندشکلی به دست آمده در این تحقیق نزدیک است. میزان PIC به عوامل دیگری مانند تعداد آلل در هر جایگاه، محتوای نوکلئوتیدهای T و G در نواحی تکرارشونده (که همبستگی مثبتی با میزان چندشکلی دارد) و طول توالی تکراری وابسته است (Roder *et al.*, 1998).

شاخص نشانگر از ۱/۵ تا ۶/۴۹ و با میانگین ۳/۳۸ محاسبه شد. این شاخص پتانسیل هر آغازگر در تولید نوار بیشتر را نشان می‌دهد (Powell *et al.*, 1996). هتروزیگوسیتی مشاهده شده از ۰/۱ تا ۰/۲۸ با میانگین ۰/۱۹ متغیر بود. تنوع ژنی یا هتروزیگوسیتی مورد انتظار که احتمال متفاوت بودن دو آلل تصادفی از دو فرد را نشان می‌دهد، در محدوده ۰/۳۸ تا ۰/۸۲ با میانگین ۰/۶۳۵ بود (جدول ۳). کم بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در بیشتر نشانگرها ناشی از نحوه تولید مثل گیاه است. با توجه به اینکه جو یک گیاه خودگشن است، بنابراین، هتروزیگوسیتی در این گیاه پایین است. در



شکل ۱- الگوی نواری آغازگر EBmac0701 در برخی از ژنوتیپ‌های جو (از چپ به راست به ترتیب نشانگر و ژنوتیپ‌های ۱۲-۲۶)  
Figure 1. Banding pattern of EBmac0701 primer in some barley genotypes (from left to right, DNA size marker and genotypes 12-26, respectively)



جدول ۳- شاخص‌های تنوع اندازه‌گیری شده توسط آغازگرهای SSR در ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه در این تحقیق

Table 3. Diversity parameters measured by SSR primers in the studied barley genotypes in this research

آغازگر Primer	تعداد آلل‌های مشاهده شده Observed allele	تعداد آلل‌های موثر Effective allele	محتوای اطلاعات چندشکل PIC	شاخص شانون Shannon's index	شاخص نشانگری Marker index	هتروزیگوسیتی مشاهده شده Observed heterozygosity	شاخص نی Nei index
Bmac0399	4	1.60	0.374	0.72	1.5	0.19	0.38
Bmac134	5	3.93	0.746	1.48	3.73	0.26	0.75
Bmag0125	4	1.88	0.47	0.76	1.88	0.22	0.47
Bmac0067	5	2.5	0.601	1.20	3.01	0.28	0.61
Bmag6	7	2.55	0.608	1.35	4.26	0.1	0.62
EBmac0701	6	4.26	0.765	1.60	4.59	0.22	0.77
Bmac310	5	3.48	0.713	1.37	3.57	0.18	0.72
Bmag0223	4	2.8	0.743	1.1	2.57	0.12	0.65
EBmac602	4	2.26	0.557	1.02	2.23	0.16	0.56
Bmag007	8	5.31	0.812	1.84	6.49	0.17	0.82

می‌توان برای ایجاد تنوع هر چه بیشتر و انجام تلاقی‌های هدفمند از گروه‌بندی بر اساس داده‌های مولکولی استفاده کرد. از آنجایی که در این گروه‌بندی اثر محیط حذف شده است، می‌توان دسته‌بندی دقیق‌تری از ژنوتیپ‌ها به دست آورد (Mojirsheibani *et al.*, 2013). به‌طور کلی، شباهت ژنتیکی و به دنبال آن نزدیکی نمونه‌های مربوط به یک دسته، می‌تواند مبین این باشد که این نمونه‌ها به احتمال زیاد در مواجهه با شرایط آب و هوایی مشابه، تغییرات ژنتیکی مشابهی در طول سالیان دراز در آنها اتفاق افتاده است، زیرا از یک منطقه جغرافیایی منشا گرفته‌اند (Ebrahimi *et al.*, 2010). الگوی گروه‌بندی با منشاء و پراکنش جغرافیایی گونه‌ها ارتباط دارد (Feng *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2009). به‌طور مشابهی در تحقیقات دیگر نیز نشان داده شده است که نتایج تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های جو وحشی اسپونانئوم با الگوی اکولوژیکی و جغرافیایی آنها مطابقت دارد (Meszaros *et al.*, 2007; Salem *et al.*, 2010).

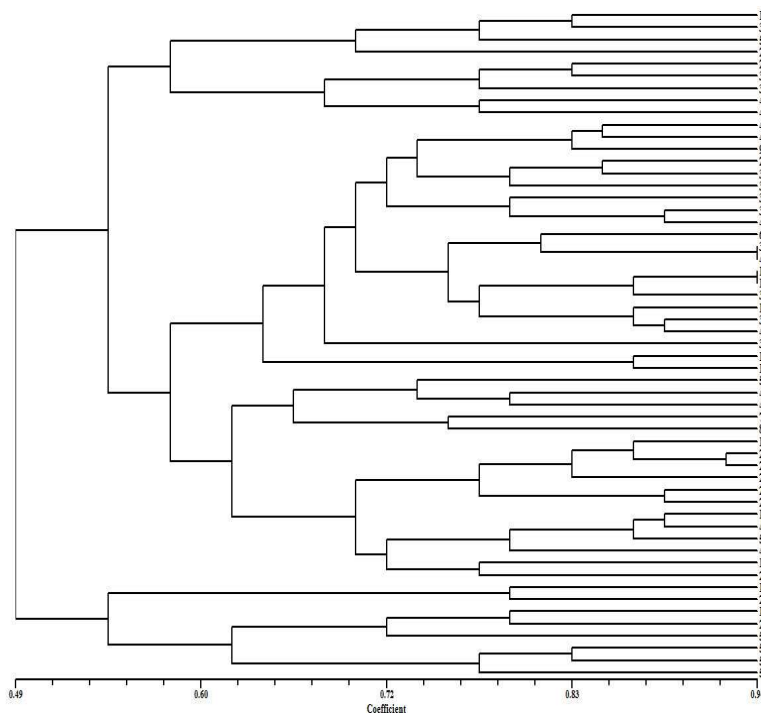
در مواردی عدم ارتباط بین پراکنش جغرافیایی با دسته‌بندی‌ها در تجزیه خوشه‌ای دیده شد (مثلاً یکی از نمونه‌های مربوط به افغانستان با نمونه‌های مربوط به سوریه و اردن در یک گروه قرار گرفتند و یا یک نمونه از ایران با نمونه‌های ترکمنستان در یک کلاستر بودند) که می‌تواند به دلایلی از جمله ناکافی بودن تعداد مکان‌های ژنی مورد مطالعه و انتقال نمونه‌های جو وحشی بین مناطق مختلف باشد (Ebrahimi *et al.*, 2010). به‌طور مشابهی در مطالعه‌ای که روی جوهای زراعی و جوهای وحشی اسپونانئوم انجام شد، در مواردی عدم ارتباط بین

در دندروگرام به‌دست آمده بر اساس خط برش رسم شده در فاصله ۰/۶۰، ۵۵ ژنوتیپ مورد مطالعه در شش گروه قرار گرفتند که هر کدام از این گروه‌ها خود به زیرگروه‌های دیگری تقسیم شدند (شکل ۲).

در گروه اول، ژنوتیپ‌هایی با شماره ۵۳، ۵۴، ۵۰، ۵۱، ۲۵، ۱۹ قرار گرفتند که چهار نمونه از ژنوتیپ‌ها از ایران و دو نمونه دیگر از ارمنستان و عراق تهیه شده بودند. گروه دوم، شامل ژنوتیپ‌هایی با شماره ۱۶ و ۲۶ بود که هر دو متعلق به فلسطین بودند. در گروه سوم، ژنوتیپ‌هایی با شماره‌های ۲۳، ۱۷، ۴۹، ۵۲، ۴۸، ۱۵، ۲۲، ۲۰، ۲۴، ۲۸، ۲۱، ۱۴، ۸، ۷، ۴۳، ۴۱ و ۵ قرار گرفتند. این گروه به استثنای یک نمونه شامل ژنوتیپ‌هایی از کشورهای همسایه شرقی و شمال شرقی ایران بود. در گروه چهارم، نمونه‌هایی با شماره‌های ۱۱، ۱۰، ۳۵، ۴۴، ۳۱، ۱۸، ۳۰، ۱۳، ۱۲، ۴۰، ۳۲، ۶، ۴۶، ۳۹، ۳۷، ۳۶، ۳۴، ۲۹، ۹، ۴۲ و ۴ جای گرفتند. ژنوتیپ‌های موجود در این گروه به جز یک نمونه همگی از منطقه سوریه و اردن جمع‌آوری شده بودند. گروه پنجم، نمونه‌های شماره ۴۷، ۴۵، ۳۸، ۳۳ و ۲۷ و گروه ششم نمونه‌های شماره ۲، ۵۵، ۳۱ را در خود جای دادند. در گروه پنجم، به‌غیر از یک نمونه، بقیه ژنوتیپ‌ها جوهای وحشی تاجیکستان بودند. ژنوتیپ‌های گروه ششم، شامل دو نمونه از افغانستان، یک نمونه از ایران و یک نمونه از ترکمنستان بود. بنابراین، ژنوتیپ‌های موجود در هر گروه، اکثراً از یک منطقه جغرافیایی خاص جمع‌آوری شده بودند. از آنجایی که ژنوتیپ‌های موجود در هر یک از گروه‌ها دارای قرابت ژنتیکی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های دیگر هستند، بنابراین

حاصل ادغام توده‌های کشورهای مختلف وجود داشت. آنها بیان داشتند که تنوع توده‌های بومی در نتیجه الگوی تکامل طبیعی آن‌ها که ناشی از شرایط آب و هوایی و اکولوژیکی محل کشت آنها است، به‌وجود آمده است (Park et al., 2011).

پراکنش جغرافیایی با دسته‌بندی‌ها مشاهده شد (Ebrahimi et al., 2010). به علاوه، در مطالعه تنوع ژنتیکی ۷۳۷ توده بومی جو از کشورهای کره، چین و ژاپن با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، توده‌ها به طور کامل بر اساس کشور منشأ تفکیک نشدند و در گروه‌بندی



شکل ۲- دندروگرام حاصل از روش UPGMA جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌های جو وحشی

Figure 2. Dendrogram generated from UPGMA method for classifying the wild barely genotypes

لازم است (Ebrahimi et al., 2010). در این مطالعه نیز از هر کروموزوم جو از دو جفت نشانگر استفاده شد. توجیه بخش کمی از تنوع توسط چند مؤلفه اول نیز نشان‌دهنده توزیع مناسب و نمونه‌برداری مطلوب از نشانگرهای استفاده شده روی کل ژنوم است. بر اساس محور اول و دوم حاصل از تجزیه به مختصات اصلی، پراکنندگی ژنوتیپ‌ها مورد بررسی قرار گرفت که نمودار پراکنندگی دو بعدی ژنوتیپ‌ها در شکل ۴ ارائه شده است. همان‌طور که در نمودار دیده می‌شود، ژنوتیپ‌ها بر اساس دو محور اول و دوم به شش گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های شماره ۳۸، ۴۷، ۳۵ و ۸، گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های شماره ۵، ۴۵، ۲۳، ۵۴ و ۵۱، گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های ۴۶، ۳۶، ۶، ۲۷، ۳۷، ۴۱ و ۷، گروه چهارم ژنوتیپ‌های شماره ۱۷، ۱۵، ۵۲، ۴۳، ۹، ۲۰، ۲، ۱۹، ۲۴، ۴۹، ۵۵ و ۴۸، گروه پنجم شامل ژنوتیپ‌های ۳۰، ۱۱، ۱۰، ۴، ۳۹، ۲۲، ۲۵،

تجزیه به مختصات اصلی را می‌توان برای نمایش دو بعدی پراکنش افراد بر اساس نشانگرهای ریزماهواره به کار برد. تجمع افراد در یک ناحیه از پلات نشان‌دهنده تشابه ژنتیکی آن دسته از افراد می‌باشد. میزان تغییراتی که برای نشانگرهای ریزماهواره توسط ده مؤلفه اول توجیه شد و درصد جمعی تغییرات توجیه شده در جدول ۴ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اولین مؤلفه ۱۰/۴۷ درصد و دومین مؤلفه ۸/۸۵ درصد از تغییرات و در مجموع ۱۰ مؤلفه اول ۶۲/۹۲ درصد از تغییرات را توجیه کردند. در بررسی تنوع ژنتیکی از طریق داده‌های مولکولی، بهتر است که نشانگرها توزیع یکنواخت و مناسبی در سطح ژنوم داشته باشند تا بتوانند کل ژنوم را به‌خوبی پوشش دهند. بنابراین اگر نشانگرها از بخش‌های مختلف ژنوم انتخاب شده باشند، همبستگی بین آنها کم خواهد بود و در نتیجه تعداد بیشتری مؤلفه برای توجیه تغییرات کل

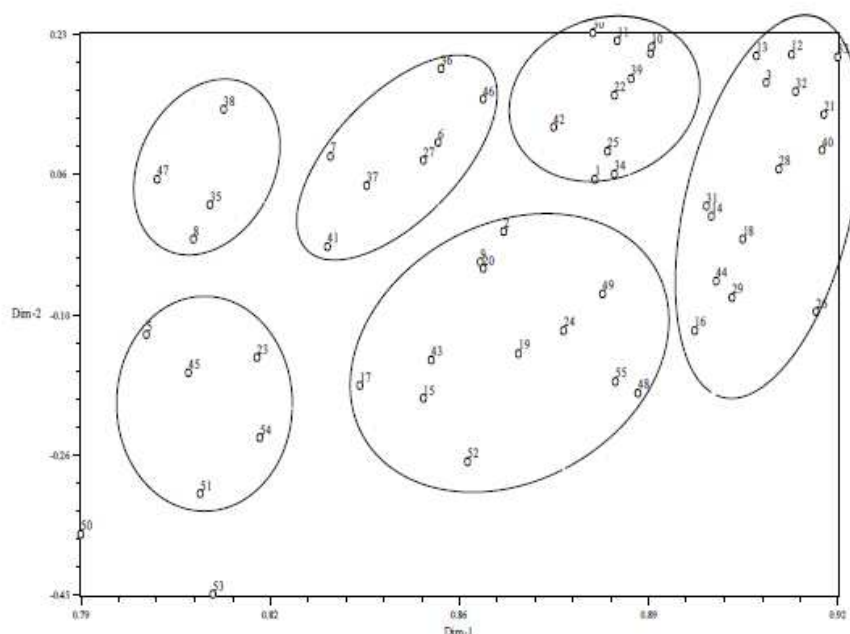
موجود در گروه‌های تجزیه به مختصات اصلی با افراد موجود در گروه‌های تجزیه خوشه‌ای تا حدی تفاوت داشتند. دلیل این موضوع نیز آن است که تجزیه خوشه‌ای، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها را بر اساس ۱۰۰ درصد اطلاعات حاصل از نشانگرها انجام داد، ولی تجزیه به مختصات اصلی فقط ۱۹/۳۳ درصد از این اطلاعات گروه‌بندی را انجام داد.

۴۲، ۱ و ۳۴ و گروه ششم شامل ژنوتیپ‌های شماره ۱۲، ۱۳، ۳۳، ۳، ۳۲، ۲۱، ۴۰، ۲۸، ۳۱، ۱۴، ۱۸، ۴۴، ۲۹، ۱۶ و ۲۶ بود. در ضمن ژنوتیپ‌های شماره ۵۰ و ۵۳ خارج از این شش گروه قرار گرفتند. نمودار دو بعدی با کمک دو مولفه اول و دوم حاصل از تجزیه به مختصات اصلی ترسیم شد. نتیجه تجزیه به مختصات اصلی تعداد گروه‌های تشکیل شده در تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد، اما افراد

جدول ۴- درصد تنوع توجیه شده توسط ده مولفه اول حاصل از تجزیه به مختصات اصلی در ۵۵ ژنوتیپ جو وحشی

Table 4. Variation percentage explained by first ten components of the principal coordinate analysis in 55 wild barley genotypes

مولفه اصلی Principal component	درصد واریانس توجیه شده توسط هر مولفه Variance explained by each component	درصد واریانس تجمعی Cumulative variance percentage
1	10.47	10.47
2	8.85	19.33
3	7.37	26.70
4	7.11	33.80
5	6.34	40.15
6	5.02	45.17
7	4.09	50.07
8	4.79	54.87
9	4.30	59.17
10	3.75	62.92



شکل ۳- نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی بر مبنای دو مولفه اول در ۵۵ ژنوتیپ جو وحشی

Figure 3. Two-dimensional plot of principal coordinate analysis based on the first two components in 55 wild barley genotypes

## نتیجه‌گیری کلی

توسط چند مؤلفه اول حاصل از تجزیه به مختصات اصلی، نشان‌دهنده توزیع مناسب نشانگرهای استفاده شده روی ژنوم بود. در مجموع نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل‌توجهی در ژرم‌پلاسما جو وحشی اسپونتانئوم مورد مطالعه وجود داشت. پیشنهاد می‌شود با مقایسه نتایج این تحقیق و نتایج حاصل از ارزیابی این ریزماهواره‌ها روی ارقام زراعی جو، پتانسیل انتقال ژن‌های مناسب و مطلوب از ژنوتیپ‌های وحشی به ارقام زراعی مورد بررسی قرار گیرد.

به‌طور کلی با توجه به شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده، نشانگرهای Bmag007، EBmac0701 و Bmac134 برای تفکیک ژنوتیپ‌ها مناسب‌ترین نشانگرها شناخته شدند. بر اساس دندوگرام تجزیه خوشه‌ای، بیشترین شباهت بین ژنوتیپ‌های سوریه و اردن بود و کمترین شباهت را نمونه‌های قزاقستان با این دو کشور داشتند و در مواردی هم بین تنوع ژنوتیپ‌ها و توزیع جغرافیایی تطابقی مشاهده نشد. توجیه بخش کمتری از تغییرات

## References

- Abdollahi Sisi, N., Mohammadi, S. A., Alavi-kia, S. S. and Sadeghzadeh, B. 2012. Efficiency of EST-SSR markers in determination genetic diversity and relationships of barley landraces. **Cereal Research** 2 (2): 83-93. (In Persian with English Abstract).
- Chen, Z. W., Lu, R. J., Zou, L., Du, Z. Z., Gao, R. H. He, T. and Huang, J. H. 2012. Genetic diversity analysis of barley landraces and cultivars in the Shanghai region of China. **Genetics and Molecular Research** 11 (1): 644-650.
- Ebrahimi, A., Naghavi, M. R., Sabokdast M. and Mardi M. 2010. Assessment of genetic diversity in accessions of two barely species (*H. vulgare* L. and *H. spontaneum* L.) using SSR markers. **Iranian Journal of Crop Sciences** 12 (3):333-345. (In Persian with English Abstract).
- Frahani, E. and Arzani, A. 2004. The use of semi-random marker for evaluation of genetic diversity among cultivars and F1 hybrids of durum wheat. Proceeding of 4<sup>th</sup> International Iranian and Russian Conference. Russia. pp: 81-86.
- 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.
- Gang Khanlu, A., Mohammadi S. A., Moghaddam, M., Ghasemi Golezani, K., Shakiba, M. and Yousufi, A. 2012. Genetic diversity in barley as revealed by microsatellite markers and Assaiation analysis of these markers by traits related to freezing tolerance. **Seed and Plant Improvement Journal** 28 (1): 101-114. (In Persian with English Abstract).
- Gong, X., Westcott, S., Li, C., Yan, G., Lance, R. and Sun, D. 2009. Comparative analysis of genetic diversity between Qinghai-Tibetan wild and Chinese landrace barley. **Genome** 52: 849-861.
- Guo, P., Baum, M., Grando, S., Ceccarelli, S., Bai, G., Li, R., Von Korff, M., Varshney, R. K., Graner, A. and Valkoun, J. 2009. Differentially expressed genes between drought-tolerant and drought sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage. **Journal of Experimental Botany** 60: 3531-3544.
- Haidari, A., Mohammadi, S. A., Moghaddam, M., Shakiba, M., Ghasemi Golezani, K. and Yousufi, A. 2011. Evaluation of the genetic diversity of barley genotypes using SSR and EST-SSR markers. **Iranian Journal of Crop Sciences** 13 (1): 56-146. (In Persian with English Abstract).
- Haj Mansour, S., Bihamta, M. A. , Mohammadi, A., Pyrsydy S. M. and Nikkhah H. R. 2010. Genetic diversity in barley genotypes. II: Microsatellite markers and morphological traits. **Seed and Plant Improvment Journal** 26 (2): 150-171. (In Persian with English Abstract).
- Jilal, A., Grando, S., Henry, R. J., Lee, S., Rice, N., Hill, H., Baum, M. and Ceccarelli, S. 2008. Genetic diversity of ICARDA's worldwide barley landrace collection. **Genetic Resources and Crop Evolution** 55: 1221-1230.
- 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.
- Meszaros, K., Karsai, I., Kuti, C., Banyai, J., Lang, L. and Bedo, Z. 2007. Efficiency of different marker systems for genotype fingerprinting and for genetic diversity studies in barley (*Hordeum vulgare* L.). **South African Journal of Botany** 73: 43-48.
- Mohamadi, H. R. 2010. Genetic variation of seedless grapevine cultivars using RAPD and SSR markers. MS. C. Dissertation. Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. (In Persian).

- Mojirsheibani, E., Peyghambari, S. A., Yazdisamadi, B., Naghavi, M. R. and Ghadrdan, K. 2013.** Evaluation of genetic diversity of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars and relationship among traits using agronomic characteristics and molecular markers. **Iranian Journal of Crop Sciences** 15 (1): 46-59. (In Persian with English Abstract).
- Nakhjavan, S., Bihamta, M. R., Darvish, F., Sorkhi, B. and Zahravi, M. 2012.** Heritability of agronomic traits in the progenies of a cross between two drought tolerant and susceptible barley genotypes in terminal drought stress conditions. **Iranian Journal of Crop Sciences** 14 (2): 136-15. (In Persian with English Abstract).
- Nie, M. 1973.** Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 70: 3321-3323.
- Park, S. K., Dong, J. L., Hyung-Jin, B., Jeongran, L. and Muhammad, F. 2011.** Study of the genetic diversity of Korean, Chinese and Japanese landraces of barley (*Hordeum vulgare* L.) using microsatellites **The Biodiversity: Research and Conservation** 23: 3-13.
- Powell, W., Morgante, M., Ander, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingy, S. and Rafalaski, A. 1996.** The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. **Molecular Breeding** 2 (3): 225-238.
- Ramsay, L., Macaulay, M., Ivanissevich, S., Maclen, K., Cardle, L., Fuller, J., Edwards, K. J., Tuveesson, S., Morgante, M., Massari, A., Maeatri, E., Marmioli, N., Sjakste, T., Ganal, M., Powell, W. and Waugh, R. 2000.** A simple sequence repeat-based linkage map of barley. **Genetics** 2: 1997-2005.
- Roder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P. and Ganal, M. W. 1998.** Microsatellite map of wheat. **Genetics** 149: 2007-2023.
- Saghai-Marouf, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. and Allard, R. 1994.** Extraordinarily polymorphic microsatellites DNA in barley genome mapping: Species diversity, chromosomal locations and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 91: 5466-5470.
- Salem, K. F. M., Varshney, R. K., Roder, M. S. and Borner, A. 2010.** EST-SSR based estimates on functional genetic variation in a barley (*Hordeum vulgare* L.) collection from Egypt. **Genetic Resources and Crop Evolution** 57: 515-521.
- Shakhatreh, Y., Haddad, N., Alrababah, M., Grando, S. and Ceccarelli, S. 2009.** Phenotypic diversity in wild barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *Spontaneum* (C. Koch) Thell.) accessions collected in Jordan. **Genetic Resources and Crop Evolution** 57: 131-146.
- Turpeinen, T., Vanhala, T., Nevo, E. and Nissila, E. 2003.** AFLP genetic polymorphism in wild barley (*Hordeum spontaneum*) populations in Israel. **Theoretical and Applied Genetics** 106: 1333-1339.
- Varshney, R. K., Grosse, I., Hahnel, U., Prasad, M., Stein, N., Langridge, P., Altschmied, L. and Graner, A. 2005.** Genetic mapping and BAC selection using EST-SSR markers provides an estimate on the gene space in the barley genome. **Theoretical and Applied Genetics** 113: 239-250.
- Wang, A., Yu, Z. and Ding, Y. 2009.** Genetic diversity analysis of wild close relatives of barley from Tibet and the Middle East by ISSR and SSR markers. **Comptes Rendus Biologies** 332: 393-403.
- Zahravi, M., Taghinejad, A. R., Afzalifar, A., Bihamta, M. R., Mozaffari, J. and Shafaedin, S. 2011.** Evaluation of genetic diversity of agronomical traits in *Hordeum spontaneum* germplasm of Iran. **Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research** 19 (1): 55-70. (In Persian with English Abstract).



University of Guilan  
Faculty of Agricultural  
Sciences

**Cereal Research**  
Vol. 6, No. 2, Summer 2016 (201-214)

## **Investigating genetic diversity of a sample of wild barely germplasm using SSR molecular marker**

**Abdolmotaleb Namavar<sup>1</sup>, Zahra Tahmasebi<sup>2\*</sup>, Javad Erfani Moghaddam<sup>3</sup>, Foad Fatehi<sup>4</sup>,  
Zeinab Yousefi<sup>1</sup> and Batol Zarei<sup>5</sup>**

Received: May 25, 2015

Accepted: November 18, 2015

### **Abstract**

Determining the level of genetic diversity and relationships among genotypes is necessary to identify the parents for different breeding purposes. In the present study, genetic diversity of 55 samples of wild barley germplasm, *Hordeum spontaneum*, collected from different regions of the world was evaluated using 14 microsatellite (SSR) markers. A total of 52 alleles were amplified with an average of 5.2 alleles per locus and average frequency of the major allele was 0.51. Polymorphic information content (PIC) ranged from 0.37 to 0.81 with an average of 0.629 and gene diversity or expected heterozygosity ranged from 0.38 to 0.82 with an average of 0.635. Results of the measured diversity parameters in the studied markers showed that Bmag007, EBmac0701 and Bmac134 were the most appropriate markers to separate genotypes. Cluster analysis based on SSR data and UPGMA method using simple matching similarity matrix assigned the genotypes into six groups. The genotypes belonging to each group were generally collected from a specific geographical region. In many cases, a mismatch between the genotypes and its geographical region was observed. Based on these results, the highest similarity was observed between Syria and Jordan genotypes and the samples from Kazakhstan had lowest similarity to the genotypes collected from these two countries. The result of this research showed that there is considerable genetic diversity in the studied wild barley samples which can be used to improve the cultivated barley after the identification of their useful genes.

**Keywords:** Cluster analysis, Heterozygosity, Polymorphism

1. Graduate M. Sc. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

2. Assist. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

3. Assist. Prof., Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

4. Assist. Prof., Dept. of Agriculture, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

5. Ph. D. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

\* Corresponding author: [z.tahmasebi@ilam.ac.ir](mailto:z.tahmasebi@ilam.ac.ir)