

تغییرهای آلی، تجزیه ارتباط و تنوع هاپلوتایپی برای نشانگرهای ریزماهواره‌ی پیوسته به QTLهای مرتبط با تحمل به خشکی در جو

محسن رضایی^۱، حسین صبوری^۱، عبدالطیف قلی‌زاده^۲، رحمت‌الله محمدی گنبد^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی در کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس.

۲. دانشیار ژنتیک بیومتری گروه تولیدات گیاهی دانشگاه گنبدکاووس.

۳. استادیار شیمی و حاصلخیزی خاک گروه تولیدات گیاهی دانشگاه گنبدکاووس.

۴. استادیار پژوهش، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان.

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۹/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۰۹

چکیده

تنش خشکی ناشی از کم‌آبی و گرمای آخر دوره رشد، از مشکل‌های مهم در کشاورزی به شمار رفته و یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد گیاهان زراعی است. از همین رو به‌منظور بررسی آلل‌های مرتبط با تحمل به خشکی در گیاه جو و همچنین گروه‌های هاپلوتایپ اثرگذار بر آن این پژوهش به انجام رسید. برای این منظور، آزمایش جهت تعیین فنوتیپ در ایستگاه تحقیقات گنبدکاووس و در قالب طرح اگمنت با ۹۶ ژنوتیپ و ۴ شاهد اجرا شد و ۱۸ صفت بر روی بوته‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس برای بررسی تنوع آلی و هاپلوتایپی، ژنوتیپ‌های مورد آزمایش به‌وسیله ۵ نشانگر ریزماهواره مرتبط با تحمل به خشکی آزمون گردیدند. بررسی تنوع آلی میانگین تعداد آلل، محتوی اطلاعات چند شکل و تنوع ژنی را به ترتیب ۵/۲، ۰/۶۲۶۷ و ۰/۶۸۰۷ نشان داد که در هر سه بخش آلل GBMS180 دارای بیشترین و آلل Bmag0782 دارای کمترین مقدار بود. همچنین نتایج بررسی هاپلوتایپی ۵۸ گروه هاپلوتایپ را نشان داد. گروه نوزده که شامل ژنوتیپ صد و سی و پنج بود با عملکرد ۵۱۸۳/۳۳۳ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد و تحمل در برابر خشکی را داشت. تجزیه ارتباط بین داده‌های مولکولی و فنوتیپی بیان‌گر این موضوع بود که از میان ۱۶ آلل مؤثر بر صفت‌های مورد ارزیابی آلل GMBS183-D با اثرگذاری بر روی سه صفت تعداد دانه در سنبله، تعداد سنبله (در هکتار) و عملکرد (در هکتار) دارای بیشترین اثرگذاری بر روی عملکرد و اجزای آن بود. آلل GMBS183-C نیز با R^2 برابر با ۲۳/۳ برای صفت تعداد سنبله (در هکتار) بالاترین مقدار ضریب تبیین را در بین آلل‌های دخیل در صفت‌های مربوط به عملکرد و اجزا عملکرد دارا بود. در صورت تأیید نتایج می‌توان از نشانگرها و ژنوتیپ‌های حاضر در تحقیقات و برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: تجزیه ارتباط، جو، خشکی، هاپلوتایپ، QTL، PIC

مقدمه

خشکی یکی از عوامل مهم تنش‌زا غیرزنده است و شدیداً تولید جو در سرتاسر جهان را محدود می‌کند (Fan et al., 2015). تنش خشکی، بیشترین تأثیر را در کاهش عملکرد گیاهان دارد. این تنش سبب ایجاد اثرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌شود (Tabaeizadeh, 1997; Jamaux, 1998). خشکی و گرمای انتهایی دوره رشد سبب کاهش طول دوره رشد و اختلال در فتوسنتز و جریان

جو (*Hordeum vulgare* L.) از مهم‌ترین غلات جهان است که سابقه هزاران ساله دارد و ۱۰۰۰۰ سال قبل بر روی زمین توسط انسان کشت و کار می‌شده است. کشت جو عمدتاً برای تولید دانه است که در تغذیه انسان (جو دانه لخت) و دام‌ها (جو پوست‌دار) مورد استفاده قرار می‌گیرند (Majnoun, 2006; Hosseini). هرگونه تنش طی دوره رشدی گیاه می‌تواند بر عملکرد و کیفیت محصول اثر سو بر جا گذارد؛ که

و با زمانی که چندین نشانگر ژنتیکی در ژن منتخب وجود داشته باشد، نمود بیشتری خواهد داشت (Hosseinzadeh et al., 2012).

تجزیه ارتباط و مطالعه رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات‌های زراعی نیز دارای کاربردهای متعددی از جمله امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص پیش از ارزیابی فنوتیپی، شناسایی آلل‌های صفت مطلوب در مجموعه ژرم-پلاس، تسهیل مکان‌یابی دقیق QTLها و تأیید ژن‌های کاندیدای مسئول صف‌های کمی است (Gebhardt et al., 2004). دژستان و همکاران (Degestan et al., 2016) در تحقیقی که بر روی ۵۲ ژنوتیپ جو دیم متعلق به کشورهای ایران، مصر و چین به‌منظور بررسی سطح تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی آن‌ها و به کمک ۵۹ جفت آغازگر ریزماهوره برای تعیین مقاومت به خشکی انجام داده بودند، ۴۰ جفت از آغازگرهای آن‌ها دارای تکثیری مناسب بود که از بین آن‌ها ۱۸ آغازگر مثبت با سازگاری به خشکی شناسایی گردید. فیوست و همکاران (Fiust et al., 2015) نیز بر روی مقاومت در برابر خشکی بهاره در گیاه جو و توسعه نشانگرهای DArT برای مکان‌یابی بهتر QTLهای مربوط به آن فعالیت داشتند، گزارش کردند که طی این آزمایش از میان نشانگرهای مختلف مورداستفاده در میان ۲۴ لاین اصلاح‌شده برتر که دارای مقاومت‌های مختلف به خشکی بودند، ۵ نشانگر از بین ۳۰ نشانگر DArT و ۳ نشانگر از میان ۳۱ نشانگر SSR انتخاب شدند، این امکان وجود دارد که این نشانگرهای مرتبط با مقاومت به خشکی برای کلون کردن مطرح شوند. تولی و همکاران (Tavalla et al., 2015) در تحقیقی که بر روی QTL بزرگ اثر تحمل به خشکی در برنج و به کمک ۱۷ نشانگر مربوط به این ناحیه انجام دادند، گزارش کردند که ۲۲ ژنوتیپ موردبررسی در مقایسه با الگوی آلی رقم Bala در ۱۶ گروه هاپلوتا‌یپ قرار گرفتند که گروه هاپلوتا‌یپ ۸ بیشترین شباهت را به این رقم از خود نشان داد. گونگ و همکاران (Gong et al., 2009) از ۵۲ نشانگر SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی ۳۳ رقم جو وحشی و ۵۶ رقم جو بومی، که عمدتاً از مناطق مختلف چین جمع‌آوری شده بودند و همچنین یک رقم زراعی استفاده کردند. در مجموع ۲۰۶ آلل در ۵۲ جایگاه ریزماهوره برای ۹۰ توده جو به دست آمد. تعداد آلل به ازای هر جایگاه ریزماهوره بین ۱ تا ۹ آلل با میانگین ۴ بود. که این میزان برای جوهای وحشی از صفر تا

انتقال مجدد مواد فتوسنتزی شده و نهایتاً باعث کاهش وزن دانه می‌شود (Mohammadi et al., 2008)، اما جو گیاهی مقاوم در برابر خشکی است و آب موردنیاز برای تولید یک واحد وزن دانه در این گیاه کمتر از سه غله مهم دیگر (گندم، ذرت و برنج) است. این گیاه در نتیجه دوره رویشی کوتاه، کمتر از دیگر غلات آب مصرف می‌کند که این وضعیت بر صرفه‌جویی در مصرف آب آبیاری مؤثر است (Rasmusson, 1985).

تنوع مبنای همه‌گرنش‌ها بوده و انتخاب ژنوتیپی نیز نیازمند تنوع است. بدیهی است که با بالا رفتن تنوع ژنتیکی در یک جامعه حدود انتخاب وسیع‌تر می‌شود (Abozari, 2008) (Gazafrodi et al., 2008) آگاهی از تنوع ژنتیکی مجموعه‌های گیاهی ضمن حفظ ذخایر ژنتیکی گیاهی، قابلیت استفاده از آن‌ها را در برنامه‌های به‌نژادی تأمین می‌کند. همچنین اطلاع از فاصله ژنتیکی بین افراد و جمعیت‌ها و روابط خویشاوندی بین آن‌ها، امکان تهیه جمعیت‌های مناسب برای ترسیم نقشه ژنتیکی و مکان‌یابی ژن‌ها را فراهم می‌سازد (Virk et al., 1995).

توالی‌های با تکرارهای کوتاه پی‌درپی (Short Tandem Repeats) یا ریزماهوره‌ها (Microsatellite) در مناطق غیر رمزگذار ژنوم انسان، حیوانات و گیاهان وجود دارند (Salimi et al., 2010). آن‌ها دارای تنوع زیادی در تکرار هستند و توارث همبازی دارند. ویژگی‌های منحصر به فرد نشانگر ریز-ماهوره می‌تواند در این نوع تحقیقات مفید باشد (Naghavi et al., 2009). داده‌های مربوط به نشانگرهای ریزماهوره به میزان زیادی توانایی تکمیل اطلاعات حاصل از صفات‌های مورفولوژیک را دارند و انتخاب بر اساس داده‌های مولکولی تأیید شده می‌تواند برای تسریع برنامه‌های اصلاح کلاسیک جهت انتخاب ژنوتیپ‌های برتر بسیار ارزشمند باشند (Owlazadeh, 2017).

اولین بار در سال ۱۹۸۰ جفریز (Jeffreys, 1980) تفاوت‌های ژنتیکی موجود در افراد جامعه را با بررسی نشانگر-های DNA و استفاده از PCR و الکتروفورز بر روی ژل اکریل آمید ردیابی کرد. یکی از راه‌های مهم برای جداسازی جمعیت‌ها، بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از جایگاه‌هایی است که چند شکل بوده و دارای جایگاه‌های آلی زیادی هستند (Salimi et al., 2010). به‌کارگیری هاپلوتا‌یپ‌ها در بررسی ارتباط ژنتیکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این اهمیت، زمانی که قدرت اطلاع‌دهی نشان‌گرهای افراد کم بوده

نظر گرفتن ریشکها برحسب سانتی‌متر) و طول ریشک به‌وسیله متر اندازه‌گیری شد. دو صفت تعداد سنبله در هکتار، تعداد سنبله‌چه و تعداد دانه در سنبله نیز شمارش شده و ثبت گردیدند. همچنین برای دو صفت روز تا خروج سنبله و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک تعداد روزها از زمان سبز شدن هر ژنوتیپ و رسیدن آن ژنوتیپ به مرحله ۴۹ زادوکس برای روز تا خروج سنبله و رسیدگی کامل دانه‌ها و کاهش میزان رطوبت آن‌ها به حدود ۲۰ درصد (Mazaheri and Majnoun Hosseini., 2010) برای روز تا رسیدگی فیزیولوژیک ثبت و محاسبه گردید. مقدار عملکرد (کیلوگرم بر هکتار) هم در مترمربع محاسبه و به هکتار تعمیم داده شد. برای اندازه‌گیری ۷ صفت مربوط به دانه یعنی طول دانه، عرض دانه، محیط دانه، مساحت دانه، ضریب گردی دانه، طول/عرض (length / width) و قطر معادل دانه ابتدا از دانه‌های مربوط به هر ژنوتیپ عکس‌برداری صورت گرفت سپس عکس‌ها به‌وسیله نرم‌افزار MATLAB آنالیز و صفت‌های موردنظر ثبت گردید. این نرم‌افزار طول و عرض دانه را برحسب سانتی‌متر و سه صفت محیط دانه، مساحت دانه و طول/عرض را بر اساس دو صفت قبلی محاسبه نمود، صفت ضریب گردی دانه یعنی میزان گرد (کروی) بودن دانه و صفت قطر معادل دانه یعنی مقدار قطر دانه بر اساس محیط را نیز با استفاده از دو فرمول زیر محاسبه نمود.

$$[1] \quad \text{ضریب گردی دانه} = \frac{\text{محیط}^2}{4 \times \pi \times \text{مساحت}}$$

$$[2] \quad \text{قطر معادل دانه} = \frac{\sqrt{4 \times \text{مساحت}}}{\pi}$$

آزمایش‌های مولکولی نیز در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه گنبدکاووس انجام گرفت که به همین منظور از هر یک از ژنوتیپ‌ها و از بین برگ‌های جوان و عاری از بیماری نمونه برگی جدا گردید و با کمک نیتروژن مایع آسیاب شد. استخراج DNA نمونه‌ها طبق روش CTAB انجام گرفت (Saghai Maroof et al., 1994) و DNAهای استخراجی در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس از ۵ نشانگر ریزماهوره متصل به QTLهای بزرگ اثر مقاومت به خشکی استفاده شد. لیست نشانگرها مورد استفاده به همراه منابع آن‌ها در جدول (۳) آمده است.

۰/۸۱۳ با متوسط ۰/۵۴۳ و برای جوهای بومی در محدوده صفر تا ۰/۷۹۰ با متوسط ۰/۴۹ متغیر بود.

هدف از این آزمایش بررسی تنوع آلی، تجزیه ارتباط و هاپلوتایپ‌های نشانگرهای ریزماهوره پیوسته به ژن‌های تحمل به خشکی در جو بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گنبد واقع در شرق استان گلستان در طول جغرافیایی 55° و 12° دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی 37° و 16° دقیقه شمالی و با ۴۵ متر ارتفاع از سطح دریای آزاد و متوسط بارش بلندمدت حدود ۴۵۰ میلی‌متر (جدول ۱) با بافت خاک سیلتی کلی لوم، اسیدپته حدود ۷/۸، هدایت الکتریکی حدود یک دسی زیمنس بر متر، با مواد آلی ۱/۵ درصد و مقدار آهک ۱۹-۱۸ درصد در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ به‌صورت آزمایش سیستماتیک با ۹۶ ژنوتیپ گیاه جو (جدول ۲) که از مرکز بین‌المللی پژوهش کشاورزی در مناطق خشک برای ایستگاه تحقیقات کشاورزی گنبدکاووس ارسال گردیده بود استفاده شد. بذرها به‌صورت دستی با استفاده از کارگر ماهر در تاریخ ۹۴/۹/۲۴ کشت گردیدند. ژنوتیپ‌ها در دو خط دو متری بافاصله بین ردیف ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بین ردیف‌ها یک متر در نظر گرفته شد. قطعه زمین موردنظر برای انجام کاشت در سال گذشته زیر کشت کلزا بود که پس از برداشت محصول بقایای آن با یک شخم توسط گاواهن به خاک برگردانده شد. بستر بذر قبل از کاشت، در رطوبت مناسب خاک، با دو دیسک عمود برهم آماده گردید. قبل از کاشت از چند نقطه از زمین محل اجرای آزمایش نمونه‌برداری خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری صورت گرفت و بر اساس نتایج تجزیه خاک و توصیه کودی آزمایشگاه خاک‌شناسی، کودهای موردنیاز و یک‌سوم از کود نیتروژن موردنیاز قبل از دیسک آخر و مابقی کود نیتروژن طی دو مرحله (شروع پنجه‌زنی و شروع طویل شدن ساقه) به‌صورت سرک به خاک افزوده شد.

در این آزمایش تعداد ۱۸ صفت فنوتیپی مورد ارزیابی قرار گرفتند که عبارت‌اند از وزن سنبله، وزن هزار دانه، که به‌وسیله ترازو شرکت AND مدل GF-600 و با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردیدند. طول سنبله (از انتهای پدانکل تا انتهای سنبله بدون در نظر گرفتن ریشک)، ارتفاع بوته (به‌صورت ارتفاع هر بوته از سطح خاک تا نوک سنبله اصلی و بدون در

جدول ۱. آمار هواشناسی سال زراعی ۹۵-۹۴ ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم گنبد

Table 1. Weather data of 2016-2017 growth season for Rainfed Agriculture Research of Gonbad Station

Month	ماه	بارندگی Rainfall (mm)	حداقل دمای مطلق Minimum absolute temperature (°C)	حداکثر دمای مطلق Maximum absolute temperature (°C)	متوسط دما Mean temperature (°C)	تعداد روز زیر صفر Number of days below 0 °C
October	مهر	37.9	5.9	41.6	23.1	1
November	آبان	99.6	4.6	33.5	15.1	0
December	آذر	61	-1	26.5	10	4
January	دی	43.1	0	26	11.5	0
February	بهمن	49.4	-1.7	28.6	8.2	9
March	اسفند	52.1	2.1	29.8	12.8	0
April	فروردین	65.1	1.9	31.1	15.2	0
May	اردیبهشت	27.8	7.4	43.4	22.1	0
June	خرداد	8.3	14.3	43.2	27	0
Total	جمع	444.3	-1.7	43.4	16.1	14

Table 1. Continued

جدول ۱. ادامه

Month	ماه	رطوبت نسبی Relative humidity (%)	تبخیر (میلی‌متر) Evaporation (mm)	متوسط دمای حداقل Average minimum temperature (°C)	متوسط دمای حداکثر Average maximum temperature (°C)
October	مهر	61	140.5	16.1	30.1
November	آبان	74	54.7	9.4	20.7
December	آذر	77	32.7	4.5	15.5
January	دی	72	43	5.4	17.7
February	بهمن	77	35.6	3	13.3
March	اسفند	82	39.8	7.5	18.2
April	فروردین	78	76.2	9.1	21.3
May	اردیبهشت	72	121.9	14.9	29.3
June	خرداد	63	126.9	18.4	35.6
Total	جمع	73	671.3	9.81	22.41

امتیازدهی بر اساس وزن مولکولی به کمک نشانگر اندازه نیز صورت گرفت تا ماتریس داده‌های ژنوتیپی برای تجزیه در نرم‌افزار Power Marker (Liu., 2005) نیز آماده گردد. از این نرم‌افزار جهت محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی مثل فراوانی آلی هر مکان ژنی، میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده برای هر مکان ژنی و شاخص PIC استفاده شد. شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی برای اندازه‌گیری چندشکلی نشانگرها، همچنین توزیع آلل‌های جایگاه‌های مکان ژنی در جمعیت است.

$$PIC = 1 - \frac{\sum X_K^2}{N} \quad [3]$$

واکنش زنجیره‌ای پلی مرز در حجم ۱۰ میکرولیتر و به‌وسیله دستگاه ترموسایکلر مدل iCycler BIORAD انجام گرفت. محصول PCR در ژل اکریل آمید ۶٪ و با دستگاه الکتروفورز عمودی مدل Clevear VS20 با ولتاژ ۱۸۰ ولت جداسازی گردید و نوارهای حاصل از الکتروفورز به‌وسیله نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد. امتیازدهی نوارهای حاصل بر روی ژل به‌صورت صفر و یک انجام شد. بدین‌صورت که ابتدا تعداد آلل‌های هر نشانگر با در نظر گرفتن کلیه ژنوتیپ‌های موردبررسی مشخص گردید. سپس برای هر آلل، هر ژنوتیپی که واجد نوار موردنظر بود امتیاز یک و برای ژنوتیپی که واجد مواد موردنظر نبود امتیاز صفر اختصاص یافت. همچنین

Table 2. Characteristics of studied genotypes

جدول ۲. مشخصات ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

شماره	شجره	شماره	شجره
No	Cross Selection History	No	Selection History Cross
1	Rihane-03 As46//Avt/Aths- Sel,02L-1AP-3AP-0AP	77	M112/TRADITION/6/V Morales CBSS04M00398T-7M-0Y-0M-0Y-3M-0AP
3	M65.157/M66.69.1//MONA/5/SUMBARD400/BERMEJO//SEN/3/TOCTE/4/SUMBARD400/BERMEJO//S EN/3/SUMBARD400/6/GLORIA-BAR/COME//LIGNEE640/3/S.P-B CB06M00140T-A-1M-0AP-0AP-0AP BU	78	V Morales /6/CHENG DU 89//PENCO/CHEVRON-BAR/3/CHAMICO/TOCTE//CONGONA
6	38/6/P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/PETUNIA 1 CBSS07Y00873S-0AP-0AP	79	SARA1-BAR/CAPUCHONA 20 CBSS04M00095S-3M-2Y-3M-0Y-1M-0AP
7	FRESA/6/Vmorales CBSS05Y00350S-25Y-0Y-0M-0AP-0TR	81	BGCLM 157.MBV/ND16301 ICB09-1482-0AP-0TR-0AP-0TR
8	CANELA/4/LEGACY/3/SVANHALS-BAR/MSEL//AZAF/GOB24DH CBSS05Y00214S-20Y-0M-0M-0AP-0TR LEGACY/CHAMICO/4/BREA/DL70//TOCTE/3/BREA/DL70//CABUYA	83	BISON 217.2/YURUZA ICB09-1508-0AP-0TR-0AP-0TR
9	CBSS05B00011S-2M-0Y-0M-0AP-0TR	84	SAL-BAR/HE 6890 24.2//CANELA ICB09-1520-0AP-0TR-0AP-0TR
11	LA MOLINA 96/ESMERALDA CBSS05M00325S-8M-0Y-0M-0AP-0TR	85	SICH84.80/ BISON 191 ICB09-1482-0AP-0TR-0AP-0TR
13	LA MOLINA 96/LEGACY/7/Vmorales/6/LEGACY//PENCO/CHEVRON-BAR CBSS05M00680D-K-2M-0M-0AP-0TR	86	MEDUSA/DIAMANT-BAR//D1.72 ICB09-1550-0AP-0TR-0AP-0TR
16	LENT/BLLU CBSS04M00122S-11M-0Y-0M-0Y-1M-0AP	87	KAB68/D3-6/B61 ICB09-1551-0AP-0TR-0AP-0TR
17	SARA1-BAR/CAPUCHONA 20 CBSS04M00095S-3M-2Y-3M-0Y-2M-0AP	89	KAB50/3/DURRA/DC SEL//SHYRI ICB09-1568-0AP-0TR-0AP-0TR
18	P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/PETUNIA/1/6/M9846//CCXX14.ARZ3/PACON/3/PALTON CBSS04B00043S-3M-0Y-0M-0Y-2M-0AP	91	NE86954/3/AGAVE/CLN-B//ZARZA ICB09-1571-0AP-0TR-0AP-0TR
19	BRS195/ND19098-1 CBSS04M00242S-6M-0Y-0M-0Y-1M-0AP	92	STAB7/H95008.47 ICB09-1573-0AP-0TR-0AP-0TR
21	PFC9215/3/ZHEDAR#1/SHYRI//OLMO CBSS02Y00246S-0M-0M-6Y-1M-0Y	95	MADRE SELVA/Malt 1 ICB09-1309-0AP-0TR-0AP-0TR
23	LA MOLINA 96/LEGACY CBSS05Y00161S-22Y-0M-0Y-0M-1AP	98	MAHIGAN/AC ROSSER H98074010- 09/500009
24	BLLU/5/LEGACY/4/TOCTE//GOB/HUMAI10/3/ATAH92/ALELI	99	MAHIGAN/H87020005 H98075002- 09/500010
25	CBSS05Y00168S-28Y-0M-0Y-0M-3AP BRS195/SCARLETT CBSS03Y00054S-1Y-1M-2Y-1M-0Y	101	BT554/MAHIGAN H98080003- 09/500012
26	CANELA//E.ACACIA/DEFRA CBSS01M00022S-13M-2M-1Y-1M-0Y	102	M91178002/MAHIGAN H98084002- 09/500014
32	PENCO/CHEVRON-BAR//LACEY/3/LA MOLINA 96 CBSS06Y00481T-A-0Y-0AP-0TR	103	H97062/H97055 H98004006- 09/500017
33	MERIT,B/IBTA80 CBSS06Y00091S-4Y-0M-0AP-0TR	104	H92013020Z/TR251 H98059001- 09/500021
34	CANELA/ICARO CBSS06Y00123S-15Y-0M-0AP-0TR	105	H92013289Z/TR656 (H93003006) J02039005-09/500024
35	P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/PETUNIA/1/6/KASOTA CBSS06Y00161S-20Y-0M-0AP-0TR	106	H98075/H97094 H99021004- 09/4S0002
37	P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/PETUNIA/1/6/CIRU	107	H87020011/MAHIGAN H99085005- 09/4S0009
41	FURAT 3/MALT 1 ICB09-1320-0AP-0TR-0AP-0TR-0AP-0TR	108	AC ROSSER/KASOTA H99089002- 09/4S0010
42	CAPUL/CABUYA//Malt 2 ICB09-1330-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	109	MAHIGAN\H01086\VIVAR H03006023- 09/4S0011
43	Atahualpa/DD-21//Malt 2 ICB09-1332-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	111	H02019/VIVAR H03010002- 09/4S0013

Table 2. Continued

شماره	شجره	شماره	شجره
No	Cross Selection History	No	Selection History Cross
44	ATAH92//GOB//MERIT,B ICB09-1383-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	113	HB510//MAHIGAN H99029008- 09/4S0020
46	TOCTE//GOB/HUMAI10/3/ATAH92/ALELI/4/GRI T ICB09-1399-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	114	H03006//PENCO/CHEVRON G03020007- 09/4S0020
47	ATAH92//GOB//KEEL ICB09-1401-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	115	H92082138X/TR704 J99037005- 09/4T0003
48	BREA/DL70//3*CABUYA/3/BREA/DL70//3*TOCTE	116	TR704/TR243 J99043004- 09/4T0006
49	ICB09-1408-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR BREA/DL70//CABUYA/3/6B89.2027/CHAMICO	117	TR704/H92013020Z J99045005- 09/4T0009
54	ICB09-1410-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR BREA/DL70//3*TOCTE/5/P.STO/3/ LBIRAN//UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1 ICB09-1424-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	118	H92066145/L94223 J99047001- 09/4T0010
57	CALI92//ROBUST/6/P.STO/3/LBIRAN//UNA80//LI GNEE640/5/BLLU/5/ PETUNIA 1	119	H92013020Z/L94223 J99049001- 09/4T0011
58	ICB09-1449-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR TOCTE/ND16301 ICB09-1451-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	121	H96106/JAGER H00010004- 09/3S0001
59	CALI92//ROBUST//ND16301 ICB09-1452-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	122	CANELA/BICHY2000 CBSS04M00013S-3M-0Y-0M-0Y-2M-0AP
62	H00013003- 09/3S0002 H99085//VIVAR/NISKA	123	LENT/BLLU CBSS04M00122S-11M-0Y-0M-0Y-2M-0AP
64	V Morales/6/BRS180 CBSS04M00026S-4M-0Y-0M-0Y-4M-0AP	125	MERIT,B//E.QUEBRACHO/DEFRA/3/CANELA CBSS01M00375T-0TOPY-30M-1M-1Y-1M-0Y
65	Morales/6/M9846//CCXX14.ARZ3/PACO/3/PALTON	127	P.STO/3/LBIRAN//UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1/6/GLORIA-BAR/COPAL CBSS04Y00096S-2Y-2M-0Y-0M-0Y
67	LENT/LACEY CBSS04M00117S-0M-0Y-0M-0Y-3M-0AP	129	P.STO/3/LBIRAN//UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1/6/LEGACY//PENCO/CHEVRON-BAR CBSS04Y00075S-7Y-1M-0Y-0M-0Y
69	V Morales/6/M111/7/LEGACY/3/SVANHALS-BAR/MSEL//AZAF//GOB24DH CBSS04M00394S-0M-0Y-0M-0Y-3M-0AP	131	TRADITION/6/P.STO/3/LBIRAN//UNA80//LIGNEE 640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1/7/LEGACY// PENCO/CHEVRON-BAR CBSS04M00295T-2M-0Y-0M-0Y-2M-0AP
70	V Morales P.STO/3/LBIRAN//UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1 CBSS97M00850T-G-2M-1Y-2M-0Y	132	GLORIA-BAR/COPAL//PM5/BEN/3/SEN/4/ PETUNIA 1/5/ PETUNIA 2// PENCO/CHEVRON- BAR /4/ PETUNIA 2/3/CHAMICO/TOCTE//CONGONA CBSS04B00032S-0M-0Y-0M-0Y-1M-0AP
72	SHYRI//GRIT//FNC1 CBSS04M00068S-3M-0Y-0M-0Y-2M-0AP	133	M112/CHAMICO/6/P.STO/3/LBIRAN//UNA80//LIG NEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1 CBSS04M00432T-5M-0Y-0M-0Y-1M-0AP
73	V Morales/6/ZIGZIG//CUCAPAH/PUEBLA CBSS04B00046S-7M-0Y-0M-0Y-2M-0AP	134	PUEBLA/CARDO//TOCTE/3/FALCON-BAR CBSS04M00150S-0M-0Y-0M-0Y-2M-0AP
74	V Morales /6/ LEGACY//PENCO/CHEVRON-BAR CBSS04M00029S-2M-0Y-0M-0Y-2M-0AP	135	LIMON/BICHY2000//DEFRA/DESCONOCIDA- BAR CBSS05Y00036S-36Y-0M-0Y-0M-4AP
75	BICHY2000//GOB/HUMAI10 CBSS04M00222S-8M-0Y-0M-0Y-1M-0AP	136	SVANHALS- BAR/MSEL//AZAF//GOB24DH/3/NE167/CLE176 CBSS05Y00056S-13Y-0M-0Y-0M-4AP
76	PENCO/CHEVRON-BAR/6/ V Morales CBSS04M00214S-19M-0Y-0M-0Y-3M-0AP	138	BBSC/CONGONA/5/LEGACY/4/TOCTE//GOB/HU MAI10/3/ATAH92/ALELI CBSS05Y00175S-15Y-0M-0Y-0M-2AP

جدول ۳. اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره

Table 3. Information of Microsatellite markers

نشانگر Marker	کروموزوم Chromosome	توالی فوروارد Forward Sequence	توالی ریورس Revers Sequence	منبع Source
GBMS180	6	GGAACATAATGCTTCGGTCCA	TGGTGCAAGTGAGCACCTAC	Abou-Elwafa, 2016a, b, c
GBM1462	2	CTGTGGCTAAAGAAGGCACC	AAGATTGCTGCAGGATAGGC	Abou-Elwafa, 2016a, b, c
GBMS183	7	TAATGGTGATGGTCTTGAGGC	AAGACTCGCGTGCCTTTTAA	Abou-Elwafa, 2016a, b, c
Bmag0872	1	ATGTACCATTACGCATCCA	GAAATGTAGAGATGGCACTTG	Abou-Elwafa, 2016a, b, c
EBmac0755	7	AGCCTGTGTATCAGGACA	CTGCTGGTGTCTCTAAAAAGT	Abou-Elwafa, 2016a, b, c

چند شکل (PIC) بالاترین مقدار را در نشانگر GBMS180 و کمترین مقدار را در نشانگر Bmag0782 نشان داد. میانگین محتوی اطلاعات چند شکل نیز ۰/۶۲۶۷ بود. مقدار تنوع ژنی نیز بین ۰/۵۷۱۱ الی ۰/۷۶۰۲ با میانگین ۰/۶۸۰۷ بود. نشانگر GBMS180 دارای بیشترین مقدار و نشانگر Bmag0782 دارای کمترین مقدار در این بخش بود. تعداد آلل مؤثر نیز میانگینی برابر با ۰/۴۱۸۹ دارد که بیشترین مقدار مربوط به نشانگر Bmag0782 بوده و نشانگر GBMS183 کمترین مقدار را در بین دیگر نشانگرها دارا بود. نشانگرهایی که دارای آمارهای تنوع بالاتری هستند از قدرت تفکیک بیشتری برخوردار می‌باشند و احتمالاً بتوان از آنها در غربال ژنوتیپ‌ها بهره بیشتری برد (Tavalla, 2013). از این رو می‌توان پس از اعتبار سنجی در جمعیت‌های دیگر، از این نشانگرها را به‌عنوان نشانگرهای آگاهی‌بخش در برنامه‌های اصلاحی تحمل به خشکی استفاده نمود.

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های ثبت‌شده با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت و تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های نشانگرهای مولکولی با استفاده از خروجی نرم‌افزار Powermarker و در نرم‌افزار 6 Mega انجام و نمودار رسم شد. رابطه بین هر کدام از صفت‌های ثبت‌شده با نشانگرهای SSR نیز با استفاده از روابط رگرسیون و با کمک از نرم‌افزار SPSS 22 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته شد.

نتایج و بحث

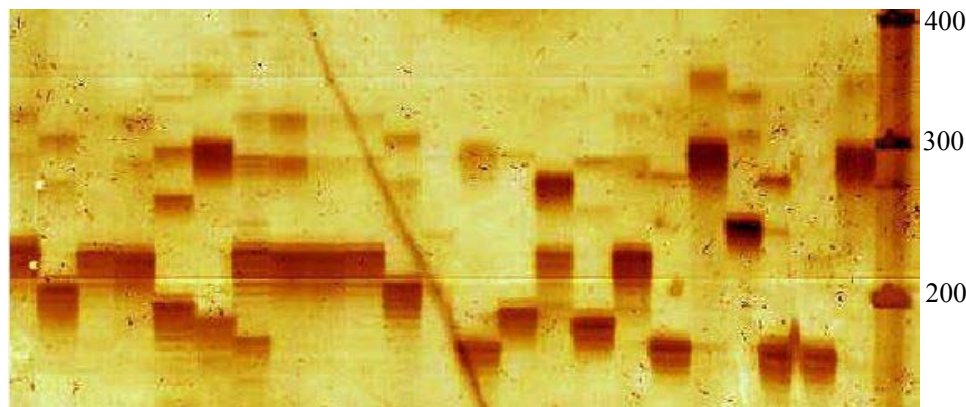
بررسی تنوع آلی

تجزیه اطلاعات به‌دست‌آمده از نشانگرها (جدول ۴) بیانگر وجود ۲۶ آلل چند شکل و همچنین به‌طور میانگین ۴/۲ آلل برای هر نشانگر بود که بیشترین تعداد مربوط به نشانگر GBM1462 (شکل ۱) با ۶ آلل بود. نتایج محتوی اطلاعات

جدول ۴. تنوع نشانگرهای ریزماهواره در ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه در این پژوهش

Table 4. The diversity of microsatellite markers in the studied barley genotypes in this research

نشانگر Marker	محتوای اطلاعات چند شکل PIC	فراوانی آلل بزرگ Major Allele Frquency	تعداد آلل Allele number	تنوع ژنی Gene Diversity
GBMS180	0.7208	0.3333	3	0.7602
GBMS183	0.7000	0.3049	4	0.7448
EBmac0755	0.6735	0.3765	4	0.7211
Bmag0872	0.5081	0.5851	4	0.5711
GBM1462	0.5309	0.4946	6	0.6061
Mean میانگین	0.6267	0.4189	4.2	0.6807



شکل ۱. تصویر ژل اکریل آمید مربوط به نشانگر GBM1462

Fig. 1. Polyacrylamide gel related to GBM1462 marker.

روشی است که با استفاده از آن می‌توان نشانگرهای مولکولی مثبت و معنی‌دار که بخش قابل توجهی از تغییرهای فنوتیپی صفت را توجیه می‌نمایند شناسایی نمود (Sabouri et al, 2013). در این روش همانند تمامی روش‌های مولکولی از عدم تعادل پیوستگی بین مکان‌های ژنومی برای شناسایی و مکان-یابی جایگاه صفت‌های کمی استفاده می‌شود (Raiesi and Sabouri, 2015).

تجزیه ارتباط اطلاعات به‌دست‌آمده از آزمایش‌های مولکولی و اطلاعات به‌دست‌آمده از بررسی‌های فنوتیپی نشان‌دهنده این موضوع بود که صفت طول ریشک با ۴ آلل EBmac0755-C, EBmac0755-B, GBM1462-E و EBmac0755-F در ارتباط بوده و این صفت بیشترین ارتباط با آلل‌ها را در بین تمام صفت‌های فنوتیپی که اندازه‌گیری شده‌اند از خود نشان می‌دهد. بعد از طول ریشک، سه صفت ارتفاع بوته، طول دانه و محیط دانه با در ارتباط بودن با سه آلل بیشترین ارتباط را با آلل‌ها دارند؛ که آلل‌های مربوط به هر صفت را می‌توانید در جدول ۶ ملاحظه بفرمایید. تمامی چهارده صفت باقی‌مانده به‌جز صفت تعداد سنبلچه توسط دو آلل کنترل می‌شوند و در این بین صفت تعداد سنبلچه تنها با آلل Bmag0782-C در ارتباط بوده و کمترین ارتباط با آلل‌ها را در بین تمامی صفت‌های مورد ارزیابی در تنش خشکی دارا است.

در میان آلل‌ها سه آلل GBMS180-B, EBmac0755-C و EBmac0755-B با مرتبط بودن در کنترل پنج صفت دارای بیشترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش

هاپلوتایپی

پس از بررسی الگوهای نواری تشکیل‌شده بر روی ژل اکریل آمید به‌منظور ارزیابی هاپلوتایپی نشانگرهای ریزماهوره QTL‌های بزرگ اثر مرتبط با خشکی در جو از پنج نشانگر متعلق به این ناحیه که در نزدیک‌ترین مکان نسبت به آن قرار گرفته‌اند، بر روی ۹۶ ژنوتیپ مورد مطالعه استفاده شد (جدول ۵). ژنوتیپ‌های مورد استفاده از لحاظ مطابقت آللی با یکدیگر گروه‌بندی شدند و میزان عملکرد (در هکتار) هر گروه هاپلوتایپ به‌عنوان معیار سنجش مقاومت به خشکی قرار گرفت؛ که در طی این بررسی‌ها پنجاه و هشت گروه هاپلوتایپ تشکیل شد که از این تعداد پنجاه و چهار هاپلوتایپ به‌صورت منفرد و چهار گروه دیگر دارای دو و یا بیش از دو هاپلوتایپ بودند. در این میان گروه هاپلوتایپ سوم با سه ژنوتیپ دارای بیشترین زیرمجموعه بود. گروه نوزده که شامل ژنوتیپ صد و سی و پنج بود با عملکرد 5183.333 کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد و مقاومت در برابر خشکی را از خود نشان داد که می‌توان از آن به‌عنوان مقیاس در آزمایش‌های بعدی استفاده نمود.

تجزیه ارتباط

امروزه استفاده از پیوستگی بین نشانگرهای مولکولی و ژن‌های کنترل‌کننده صفت‌های کمی، فرآیند اصلاح نباتات را تسریع کرده است، به‌طوری‌که به‌جای ارزیابی صفت‌های، گزینش غیرمستقیم به کمک نشانگرهای پیوسته صورت می‌گیرد (Shokrpour et al, 2008). تجزیه ارتباط نیز

و طول سنبله در سطح ۵٪ ارتباط نشان داد. از بین شانزده آلل باقی‌مانده آلل‌های Bmag0782-C، EBmac0755-C، GBMS183-B، EBmac0755-D، GBMS180-A، Bmag0782-A و GBM1462-F با یک صفت مرتبط بوده و در کنترل آن صفت نقش دارند.

بودند. بعدازاین سه آلل؛ آلل GBMS183-D با چهار ارتباط و Bmag0782-، GBM1462-E، GBMS183-C، EBmac0755-E و B بعدی در دسته‌بندی آلل‌ها بر اساس تعداد ارتباط با صفت‌ها قرار می‌گیرند. آلل GBM1462-A نیز با دو صفت ارتفاع بوته

جدول ۵. گروه‌های هاپلوتایپی برای نشانگرهای متصل به ژن‌های تحمل به خشکی در ژرم پلاسم مورد مطالعه

Table 5. Haplotype groups for markers associated with drought tolerance genes in the studied germplasm

نشانگر Marker	هاپلوتایپ Haplotype														
GBMS180	A	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	B	B
GBMS183	D	D	C	B	B	B	B	B	A	A	A	A	B	B	
EBmac0755	C	C	D	C	D	C	A	A	A	C	C	C	B	D	D
Bmag0782	B	A	B	A	A	C	D	D	B	C	C	B	C	C	B
GBM1462	A	C	C	C	A	C	B	A	C	C	B	B	B	B	A
شماره هاپلوتایپ Haplotype no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
روز تا خروج سنبله day until the emergence of the spike	117.5	115.5	114	116	110	114	115	116	110	109	117	109	111	114	111
ارتفاع بوته Plant height	107.5	98.5	105	103	110	106	107	105	97	95	110	96	91	106	107
عملکرد (کیلوگرم در هکتار) Yield (kg/ha)	2812.50	2650.00	2955.56	2337.50	2058.333	1983.333	2016.667	1541.667	1441.667	1258.333	1158.333	1733.333	1808.333	2691.667	1950

1: 118, 117, 2: 59, 64, 3: 19, 111, 109, 4: 41, 42, 5: 93, 6: 77, 7: 85, 8: 76, 9: 83, 10: 86, 11: 81, 12: 79, 13: 75, 14: 72, 15: 92, 16: 73, 17: 70, 18: 91, 19: 135, 20: 136, 21: 131, 22: 129, 23: 21, 24: 51, 25: 108, 26: 98, 27: 102, 28: 43, 29: 24.

Table 5. Continued

جدول ۵. ادامه

نشانگر Marker	هاپلوتایپ Haplotype														
GBMS180	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GBMS183	B	A	A	D	D	D	D	C	C	C	C	C	C	C	C
EBmac0755	C	D	C	C	C	A	A	E	E	D	D	D	C	C	
Bmag0782	C	D	B	C	C	D	B	B	A	B	A	A	D	C	
GBM1462	C	B	A	C	B	B	B	B	B	F	E	C	D	D	
شماره هاپلوتایپ Haplotype no	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
روز تا خروج سنبله day until the emergence of the spike	117	114	116	116	114	116	117	112	114	111	116	116	110	115	
ارتفاع بوته Plant height	95	90	106	93	102	90	95	96	106	107	103	105	88	100	
عملکرد (کیلوگرم در هکتار) Yield (Kg/ha)	1858.333	2258.33	2166.667	5183.333	2616.667	1908.333	1683.333	2408.33	3008.333	2116.667	2041.667	2108.333	2775	3283.333	

1: 118, 117, 2: 59, 64, 3: 19, 111, 109, 4: 41, 42, 5: 93, 6: 77, 7: 85, 8: 76, 9: 83, 10: 86, 11: 81, 12: 79, 13: 75, 14: 72, 15: 92, 16: 73, 17: 70, 18: 91, 19: 135, 20: 136, 21: 131, 22: 129, 23: 21, 24: 51, 25: 108, 26: 98, 27: 102, 28: 43, 29: 24.

جدول ۵. ادامه Table 5. Continued

نشانهگر Marker	هاپلوتا‌پ Haplotype														
GBMS180	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GMBS183	C	C	C	C	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B
EBmac0755	C	C	B	B	A	A	D	D	D	C	C	C	B	A	A
Bmag0782	A	A	E	A	B	B	E	C	A	C	B	A	A	C	C
GBM1462	C	B	B	C	C	B	B	B	A	A	C	B	C	D	B
شماره هاپلوتا‌پ Haplotype no	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
روز تا خروج سنبله day until the emergence of the spike	123	117	104	106	112	114	118	114	116	112	117	116	115	115	116
ارتفاع بوته Plant height	83	91	106	96	101	90	103	104	115	103	112	106	103	104	103
عملکرد (کیلوگرم در هکتار) Yield (Kg/ha)	2516.667	2458.333	2500	1541.667	2541.667	2116.667	3166.667	2050	2450	841.6667	1975	2625	1941.667	1616.667	2200

30: 48, 31: 58, 32: 23, 33: 49, 34: 104, 35: 37, 36: 3, 37: 7, 38: 95, 39: 47, 40: 65, 41: 9, 42: 123, 43: 137, 44: 89, 45: 127, 46: 35, 47: 33, 48: 69, 49: 106, 50: 107, 51: 101, 52: 96, 53: 44, 54: 6, 55: 114, 56: 54, 57: 67, 58: 105.

جدول ۵. ادامه Table 5. Continued

نشانهگر Marker	هاپلوتا‌پ Haplotype														
GBMS180	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
GMBS183	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
EBmac0755	A	A	A	D	D	D	D	D	C	B	B	B	A	A	A
Bmag0782	B	A	A	D	C	B	A	A	C	C	B	B	C	B	B
GBM1462	A	B	A	A	C	C	D	C	D	B	E	B	A	A	D
شماره هاپلوتا‌پ Haplotype no	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	58
روز تا خروج سنبله day until the emergence of the spike	109	117	109	110	112	112	114	116	110	115	111	110	114	114	112
ارتفاع بوته Plant height	102	100	110	106	96	99	110	113	85	94	95	98	108	108	89
عملکرد (کیلوگرم در هکتار) Yield (Kilograms / Hectare)	2666.667	383.3333	1433.333	1575	1866.667	1675	1583.333	1916.667	2241.667	2050	1375	1758.333	2208.333	2208.333	2783.333

30: 48, 31: 58, 32: 23, 33: 49, 34: 104, 35: 37, 36: 3, 37: 7, 38: 95, 39: 47, 40: 65, 41: 9, 42: 123, 43: 137, 44: 89, 45: 127, 46: 35, 47: 33, 48: 69, 49: 106, 50: 107, 51: 101, 52: 96, 53: 44, 54: 6, 55: 114, 56: 54, 57: 67, 58: 105.

F آلل EBmac0755-C با ۲۸ درصد تأثیر بر طول ریشک و آلل GMBS183-B با ۲۷/۹ درصد تأثیر بر روی صفت ارتفاع بوته بیشترین تأثیر را بر روی تغییرها در صفت‌های بررسی شده داشتند. همچنین نتایج حاصل از تجزیه ارتباط

از نظر میزان اثرگذاری آلل‌ها بر روی صفت‌های، آلل GBM1462-F با ۳۳/۱ درصد توجیه تغییرهای فنوتیپی در صفت طول ریشک دارای بیشترین اثرگذاری بر روی صفت-های در بین تمامی آلل‌ها بوده است. بعد از آلل-GBM1462

مشخص کرد که آلل GMBS183-D در کنترل چهار صفت تعداد سنبله، وزن سنبله، تعداد دانه در سنبله و عملکرد نقش داشته و بیشترین تأثیر را در میان دیگر آلل‌ها بر میزان افزایش و یا کاهش عملکرد و اجزا آن دارا است. نتایج تجزیه

خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد آزمایش (شکل ۲) را در ۵ گروه تقسیم‌بندی نمود که این گروه‌ها به ترتیب شامل ۲۰، ۲۵، ۱۳، ۱۸ و ۲۰ ژنوتیپ در زیرشاخه خود بودند.

جدول ۶. نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفتهای مخت

Table 6. The results of the association analysis between microsatellite markers and different traits

Traits	صفتهای عرض از مبدأ	آلل Allele	ضریب	خطای	F	R ²
			رگرسیون B	استاندارد Std.error		
Spike weight	وزن سنبله 2.118	GMBS183-D	-0.508**	0.179	6.762*	10
		EBmac0755-E	-0.788*	0.399	6.328**	17.4
Spike length	طول سنبله 8.262	GBM1462-A	0.871*	0.328	5.531*	8.3
		EBmac0755-A	-0.634*	0.309	5.007*	14.3
Number of spikes	تعداد سنبلچه 12.544	Bmag0782-C	-1.1*	0.519	4.484*	6.8
Number of grain per spike	تعداد دانه در سنبله 45.674	GMBS183-D	-13.388**	4.226	8.203**	11.9
		EBmac0755-E	-20.824*	8.026	7.853**	20.7
Rash length	طول ریشک 6.134	GBM1462-E	-2.761**	0.880	5.745*	8.6
		EBmac0755-B	1.963**	0.504	7.924**	20.9
		EBmac0755-C	0.887**	0.328	7.654**	28
		GBM1462-F	2.536*	1.207	7.176**	33.1
Day to the spike emergence	روز تا خروج سنبله 113.729	EBmac0755-B	-3.964**	1.250	9.530**	13.5
		Bmag0782-A	1.822*	0.870	7.226**	19.4
Plant height	ارتفاع بوته 96.647	GBM1462-A	6.318*	2.405	9.829**	13.9
		EBmac0755-D	5.491**	2.031	8.633**	22.3
		GMBS183-B	4.209*	1.979	7.601**	27.9
Day to the physiological maturity	روز تا رسیدگی فیزیولوژیک 152.940	EBmac0755-B	-2.233*	0.928	5.712*	8.6
		GMBS183-C	-1.473*	0.670	5.453**	15.4
Weight of one thousand grain	وزن هزار دانه 38.862	EBmac0755-A	-4.017**	1.370	6.018*	9
		GBMS180-B	-5.394*	2.107	6.562**	17.9
Yield (Kg/ha)	عملکرد (کیلوگرم بر هکتار) 1922.650	GMBS183-D	866.934**	249.468	7.120*	10.5
		GMBS183-C	595.059**	190.824	8.931**	22.9
Number of spikes per hectare	تعداد سنبله در هکتار 26237.385	GMBS183-D	12641.865**	3488.665	8.131**	11.8
		GMBS183-C	8000.990**	2668.558	9.093**	23.3
grain length	طول دانه 8.410	EBmac0755-B	0.810**	0.264	9.393**	13.3
		Bmag0782-B	-0.444*	0.178	7.708**	20.4
		GBMS180-A	0.476*	0.200	7.435**	27.4
grain width	عرض دانه 3.172	GBMS180-B	-0.353**	0.101	12.243**	16.7
		EBmac0755-E	0.340*	0.156	8.878**	22.8
grain perimeter	محیط دانه 24.434	Bmag0782-B	-1.222*	0.466	8.329**	12
		GBMS180-B	-2.337**	0.805	7.514**	20
		EBmac0755-A	-1.250*	0.527	7.271**	27
grain Area	مساحت دانه 22.202	GBMS180-B	-4.557**	1.250	9.773**	13.8
		EBmac0755-A	-2.133*	0.813	8.801**	22.7
grain Round	ضریب گردی دانه 2.158	Bmag0782-B	-0.128**	0.045	7.003*	10.3
		GBM1462-E	0.256*	0.119	6.037**	16.8
Length / width	طول/عرض 2.758	EBmac0755-B	0.183*	0.087	6.611*	9.8
		GBM1462-E	0.320*	0.155	5.602**	15.7
Equidial	قطر معادل دانه 5.289	GBMS180-B	-0.569**	0.155	9.800**	13.8
		EBmac0755-A	-0.270*	0.101	8.960**	23



شکل ۲. خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره متصل به QTL‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی بر اساس ضریب جاکارد و روش گروه‌بندی UPGMA

Fig. 2. Clustering of the studied genotypes using microsatellite markers linked to the QTL controlling drought tolerance based on Jaccards coefficient and UPGMA method

که شامل ژنوتیپ ۱۳۵ بود با عملکرد 5183.333 کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد و مقاومت در برابر خشکی را داشت. نتایج حاصل از تجزیه هاپلوتایپی گروه هاپلوتایپ نوزده را دارای بیشترین عملکرد معرفی نمود. این گروه شامل پنج آلل EBmac0755-C, GBMS183-D, GBMS180-A و Bmag0782-C بود که بررسی‌های حاصل از تجزیه ارتباط به روش رگرسیون خطی ۵ آلل را در کنترل ۴ صفت مربوط به عملکرد و اجزای آن دخیل دانست که از میان آن‌ها تنها ۱ آلل (GBMS183-D) مربوط به گروه هاپلوتایپ نوزده بود. می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل از رگرسیون خطی و بررسی هاپلوتایپی همپوشانی زیادی

نتیجه‌گیری

یکی از اهداف عمده اصلاح جو افزایش عملکرد دانه است. عملکرد دانه در جو بخش اقتصادی گیاه است که برحسب مقدار دانه و یا ماده خشک در واحد سطح اندازه‌گیری می‌شود (Zhu et al., 1999). به همین دلیل میزان عملکرد هر ژنوتیپ برابر با تحمل آن ژنوتیپ در مقابل تنش خشکی در نظر گرفته شد. عملکرد دانه جو حاصل ضرب اجزای عملکرد یعنی تعداد دانه در سنبله، تعداد سنبله در واحد سطح و وزن دانه است (Zhu et al., 1999). در این تحقیق صفت تعداد خوشه بارور و تعداد خوشه نابارور نیز ثبت شدند. گروه نوزده

آن در کنترل سه صفت تعداد سنبله، تعداد دانه در سنبله و عملکرد نقش داشت. این نشانگر همچنین در کنترل صفت روز تا رسیدگی فیزیولوژیک که نقش مهمی در فرار گیاهان از تنش‌ها به خصوص تنش خشکی دارد حضور داشته و R^2 آن معادل با ۱۵/۴ بوده است. این مسئله نشان‌دهنده این موضوع است که نتایج حاصل از رگرسیون خطی با نتایج تنوع آلی مطابقت داشته و همدیگر را همپوشانی می‌کنند.

نداشتند هرچند که رگرسیون خطی جز به جز، نقش آلی‌ها را تک تک بررسی می‌کند و گروه‌های آلی توانایی تأثیرگذاری متقابل بر روی هم را دارند اما بازهم اطلاعات به دست آمده باهم مطابقت کامل نداشتند.

اما مقایسه نتایج حاصل از تنوع آلی با رگرسیون خطی شباهت داشتند و نشانگر GMBS183 که دارای بیشترین مقدار PIC بود از میان چهار صفت مربوط به عملکرد و اجزای

منابع

- Abou-Elwafa, S.F., 2016a. Association mapping for yield and yield-contributing traits in barley under drought condition with genome-based SSR markers. *Journal of C.R. Biologies*. 339, 153-162.
- Abou-Elwafa, S.F., 2016b. Association mapping for drought tolerance in barley at the reproductive stage. *Journal of C.R. Biologies*. 339, 51-59.
- Abou-Elwafa, S.F., 2016c. Association mapping for drought tolerance in barley. *Journal of Gen Technology*. 5(1), 1-3.
- Abozari Gazafrodi, A., Honar Nejad, R., Fotokian, M.H., 2008. Genetic diversity of rice using evaluation of morphological traits. *Research and Development in Agriculture and Horticulture*. 78, 110-117. [In Persian with English Summary].
- Degestan, S., Izadi dogonchi, M., Asghari, A., Sadeghzade, B., 2016. Genetic diversity of barley (*Hordeum vulgare*) genotypes using microsatellite markers and association analysis of traits related to drought compatibility. *Journal of Plant and Seed Breeding*. 1, 67-82. [In Persian with English Summary].
- Fan, Y., Shabala, S., Ma, Y., Xu, R., Zhou, M., 2015. Using QTL mapping to investigate the relationships between abiotic stress tolerance (drought and salinity) and agronomic and physiological traits. *BMC Genomics*. 16, 43-50.
- Fiust, A., Rapacz, M., Wójcik-Jagła, M., Tyrka, M., 2015. Development of DArT-based PCR markers for selecting drought-tolerant spring barley. *Journal of Applied Genetics*. 56, 299-309.
- Gebhardt, C., Ballvora, A., Walkemeier, B., Oberhagemann, P., Schuler, K., 2004. Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: A case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Molecular Breeding* 13, 93-102.
- Gong, X., Westcott, S., Li, C., Yan, G., Lance, R., Sun, D., 2009. Comparative analysis of genetic diversity between Qinghai-Tibetan wild and Chinese landrace barley. *Genome*. 52, 849-861.
- Hosseinzadeh, N., Mehrabi, Y., Daneshpour, M., Alavi Majd, H., Azizi, F., 2012. Genetic association of some haplotypes to level of HDL-C, triglyceride, and waist in family members with metabolic syndrome using haplotype based association test. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 14, 275-308. [In Persian with English Summary].
- Jamaux, I., Steinmetz, A., Belhassen, E., 1997. Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustment in sunflower. *New Phytology*. 137, 117-127.
- Jeffreys A.J., 1980. Highly variable minisatellites and DNA fingerprints. *Biochemistry Trans*, 15: 309-17.
- Liu, M., 2005. "PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis". *Bioinformatics*. 21(9), 2128-2129.
- Majnoun Hosseini, N., 2006. *Cereals Production*. Naghsh Mehr Press. 116p. [In Persian].
- Mazaheri D, Majnoun Hosseini, N, 2010. *Fundamental of Agronomy*. Tehran University Press. 412p. [In Persian].
- Mohammadi, M., Talei, A., Zeynali, H., Naghavi, M.R., Baoom, M., 2008. Mapping QTLs Controlling Drought Tolerance in a Barley Doubled Haploid Population. *Seedlings and Seed*. 24(1), 1-15. [In Persian with English Summary].

- Naghavi, M.R., Ghareyazi, B., Hoseini Salekdeh, G., 2009. Molecular Markers. Tehran University Press. 320p. [In Persian].
- Owlazadeh, E., 2017. Association analysis of Agronomic traits of barley germplasm using iPBS markers. MSc dissertation, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad, Iran. [In Persian with English Summary].
- Raiesi, T., Sabouri, A., 2015. Validation and association analysis of microsatellite markers related to drought and salinity tolerance in aerobic and Iranian rice under osmotic stress. *Crop Biotechnology*. 10, 57-72. [In Persian with English Summary].
- Rasmusson, D.C., 1985. Barley. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Publishers, Madison, Wisconsin.
- Sabouri, A., Sabouri, H., Dadras, A.R., 2013. Association analysis of closely linked markers to major QTLs *Saltol* and *SKC1* and salt tolerance-related traits in rice varieties. *Cereal Research*. 3, 1. 53-68. [In Persian with English Summary].
- Salimi A., Farazmand A., Zargar S. J., Minaei T., 2010. Allelic and haplotype frequencies of Y chromosome STRs in a random population of Iranian males. *Journal of Iranian Biology*. 23(3), 309-320. [In Persian with English Summary].
- Shokrpour, M., Mohammadi, S.A., Moghaddam, M., Ziai, S.A., Javanshir, A., 2008. Analysis of morphologic association, phytochemical and AFLP markers in milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 24(3), 278-292. [In Persian with English Summary].
- Tabaeizadeh, Z., 1998. Drought induced responses in plant cells. *International Review of Cytology*. 182, 193-242. [In Persian with English Summary].
- Tavalla, R., Aalami, A., Sabouri, H., Sabouri, A., 2015. Evaluation of haplotype and allelic diversity of SSR markers linked to major effect QTL on chromosome 9 controlling drought tolerance in rice. *Cereal Research*. 5(2), 107-119. [In Persian with English Summary].
- Tavalla, R., 2013. Haplotype Diversity at QTLs related to drought tolerance on chromosome 9 of rice (*Oryza sativa* L.). MSc dissertation, Faculty of Agriculture, University of Gilan, Iran. [In Persian with English Summary].
- Virk, P.S., Ford-Lloyd, B.V., Jackson, M.T., Newbury, H.J., 1995. Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collections. *Heredity*. 74, 170-179.