

تجزیه مولکولی تنوع و روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های بومی جو بر اساس نشانگرهای ریزماهواره

علی شوروزدی^۱، سید ابوالقاسم محمدی^{۲،۳*}، مجید نوروزی^۴ و بهزاد صادق زاده^۵

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز

۲- استاد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز

۳- قطب علمی اصلاح مولکولی غلات، دانشگاه تبریز، تبریز

۴- استادیار، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز

۵- استادیار، موسسه تحقیقات دیم کشور، مراغه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۸/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۱۴)

چکیده

ژنوتیپ‌های بومی به دلیل تطابق و سازگاری با شرایط محیطی مختلف، ذخایر ژنتیکی با ارزشی برای افزایش تنوع ژرم پلاسماهای اصلاحی و نیز منابع بالقوه برای ژن‌های مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی بشمار می‌روند. در این مطالعه، تنوع و ساختار ژنتیکی ۱۱۹ ژنوتیپ بومی جو از کشورهای مختلف و ۲۵ رقم تجاری و لاین اصلاحی با استفاده از ۴۵ جفت آغازگر ریزماهواره مورد ارزیابی قرار گرفت. در مجموع ۲۲۵ آلل با دامنه ۲ تا ۱۴ و میانگین ۵ آلل به ازای هر جایگاه تکثیر شدند. میزان اطلاعات چندشکلی برای نشانگرها بین ۰/۰۵ تا ۰/۹۰ با میانگین ۰/۵۱ متغیر بود. کمترین و بیشترین فراوانی آلل شایع به ترتیب مربوط به نشانگرهای EBMAC0788 (۰/۱۳) و GBM1411 (۰/۹۷) بود. تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که واریانس درون‌گروهی (۹۴ درصد) سهم بیشتری در تبیین واریانس مولکولی کل در مقایسه با واریانس بین گروهی داشت. حداکثر و حداقل شاخص‌های شانون و تنوع ژنی نی به ترتیب به ژنوتیپ‌های بومی ایران و مصر تعلق داشت. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم Minimum Evolution و ضریب فاصله P-distance ژنوتیپ‌ها را به سه گروه منتسب کرد. این گروه‌بندی تا حدودی با مناطق جغرافیایی ژنوتیپ‌ها مطابقت داشت.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، ژرم پلاسما، ژنوتیپ‌های بومی جو، ساختار جمعیت

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: mohammadi@tabrizu.ac.ir

مقدمه

جو یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی دنیا محسوب می‌شود که رتبه پنجم را پس از ذرت، گندم، برنج و سویا در تولید ماده خشک دارد. متوسط عملکرد جو در دنیا در طی سال‌های اخیر ۲/۴۹ تن در هکتار و در ایران ۱/۷۴ تن در هکتار بوده است (FAO, 2013).

در سال‌های اخیر به علت استفاده از ارقام اصلاح شده و یکنواختی کشت، تنوع ژنتیکی گیاهان مختلف در معرض خطر قرار گرفته است. تنوع ژنتیکی، قابلیت سازگاری درازمدت و بقای جمعیت‌ها را تضمین می‌کند. کاندون و همکاران (Condon et al., 2008) با بررسی تنوع آلی ارقام جو کشت شده در طی سال‌های ۱۹۸۵ تا ۱۹۹۸ با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره نشان دادند که میزان تنوع ژنتیکی به نحو چشمگیری کاهش یافته است، به طوری که در روند برنامه‌های اصلاحی، متوسط تنوع آلی در جایگاه‌های ریزماهواره از ۵/۸۹ به ۲/۳۹ کاهش پیدا کرده است. در این راستا، ژنوتیپ‌های بومی به دلیل تطابق و سازگاری با شرایط محیطی مختلف، ذخایر ژنتیکی با ارزشی برای افزایش تنوع ژرم پلاسماهای اصلاحی و نیز منابع بالقوه برای ژن‌های مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشند (Brush and Meng, 1998).

بررسی تنوع و تعیین روابط ژنتیکی افراد در گیاهان مختلف بر اساس نشانگرهای مورفولوژیکی، آیزوزیم‌ها، پروتئین‌های ذخیره‌ای و نیز نشانگرهای DNA انجام می‌شود. نشانگرهای مبتنی بر DNA به دلیل فراوانی ژنومی بالا، عدم تأثیرپذیری از شرایط محیطی، مرحله رشد، نوع بافت و اندام و چندشکلی بالا، کارایی بیشتری دارند (Joshi et al., 1999). در سال‌های اخیر، نشانگرهای SSR به دلیل چندشکلی زیاد، تکرارپذیری بالا، امتیازدهی هم‌بازر، فراوانی ژنومی بالا، توزیع تصادفی در ژنوم (Mango et al., 2001) و امکان انتقال‌پذیری آن‌ها در گونه‌ها و جنس‌های خویشاوند (Wang et al., 2005) کاربرد فراوانی را در مطالعات ژنتیکی و اصلاح‌نیات به خود اختصاص داده‌اند. کریم و همکاران (Karim et al.,)

(2010) با بررسی روابط ژنتیکی ۱۲ ژنوتیپ جو با استفاده از نشانگرهای RAPD و SSR گزارش کردند که نشانگرهای SSR تنوع بالایی را نسبت به نشانگرهای RAPD داشته و ژنوتیپ‌ها را بر اساس منشاء آن‌ها تفکیک می‌کنند. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2010) در بررسی تنوع ژنتیکی ۷۳ نمونه جو ایران از دو گونه *Hordeum vulgare* و *H. spontaneum* با استفاده از ۱۵ جفت نشانگر ریزماهواره، آن‌ها را به سه گروه منتسب کردند. گروه اول شامل نمونه‌هایی از هر دو گونه *H. vulgare* و *H. Spontaneum* جمع‌آوری شده از ایران و گروه‌های دوم و سوم به ترتیب شامل نمونه‌هایی از *H. vulgare* و *H. spontaneum* بودند. حیدری و همکاران (Heidari et al., 2011) با استفاده از ۱۹ جفت آغازگر SSR و EST-SSR، تنوع ژنتیکی ۳۵ لاین و ژنوتیپ جو را مطالعه و در مجموع، ۱۵۷ آلل چند شکل با میانگین ۷/۸۵ آلل به ازای هر جفت آغازگر با PIC بین ۰/۱۵ تا ۰/۸۹ و میانگین ۰/۶۹ گزارش کردند. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از داده‌های مولکولی ژنوتیپ‌ها را به پنج گروه منتسب کرد. گنج‌خانلو و همکاران (Ganjekhanloo et al., 2012) تنوع ژنتیکی ۳۵ ژنوتیپ جو را با استفاده از ۴۴ جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند. در مجموع ۲۶۸ آلل چندشکل با میانگین ۷/۴۴ آلل به ازای هر جایگاه تکثیر شد و ژنوتیپ‌ها بر اساس این نشانگرها به سه گروه منتسب شدند که با شجره آن‌ها مطابقت داشت. گونگ و همکاران (Gong et al., 2009) از ۵۲ جفت آغازگر SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی ۳۳ ژنوتیپ وحشی جو، ۵۶ ژنوتیپ بومی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف چین استفاده کردند. در مجموع ۲۰۶ آلل در ۵۲ جایگاه تکثیر شد و تعداد آلل به ازای هر جایگاه بین یک تا نه آلل با میانگین چهار متغیر بود. متوسط میزان اطلاعات چندشکلی ۰/۵۵ برآورد شد که این میزان برای جوه‌ای وحشی از صفر تا ۰/۸۱ با متوسط ۰/۵۴ و برای جوه‌ای بومی در محدوده صفر تا ۰/۷۹ با متوسط ۰/۴۹ متغیر بود. هدف این مطالعه، تعیین سطح تنوع ژنتیکی و

تعیین قدرت تمایز نشانگرها، پارامترهای میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) (Botstein *et al.*, 1980) و شاخص تنوع ژنی نی (H) (Nei, 1973) با استفاده از فرمول‌های زیر توسط نرم‌افزار PowerMarker V. 3.25 (Liu and Muse, 2005) محاسبه گردید.

$$\text{PIC} = 1 - \sum p_i^2 - 2 \sum p_i^2 p_j^2 \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$H = 1 - \sum p_i^2 \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در آن‌ها p_i و p_j به ترتیب فراوانی آلل نام و نام است. برای تفکیک واریانس مولکولی کل به واریانس ژنتیکی درون و بین گروه‌ها از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) با نرم‌افزار GenALEX V. 6.4 (Peakall and Smouse, 2006) استفاده شد. علاوه بر این، تنوع درون گروه‌ها بر اساس شاخص اطلاعات شانون (Zhu *et al.*, 1998) و شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1973) توسط نرم‌افزار PopGen V. 1.32 (Yeh *et al.*, 1997) برآورد گردید. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای بر اساس الگوریتم Minimum Evolution و ضریب فاصله p-Distance انجام شد. دندروگرام با استفاده از نرم‌افزارهای MEGA 5.05 (Tamura *et al.*, 2011) و ۱۰۰۰ بار بوت‌استرپ رسم گردید. تجزیه به بردارهای اصلی به‌عنوان روش مکمل تجزیه خوشه‌ای برای تعیین روابط بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenALEX V. 6.41 (Peakall and Smouse, 2006) انجام شد.

نتایج و بحث

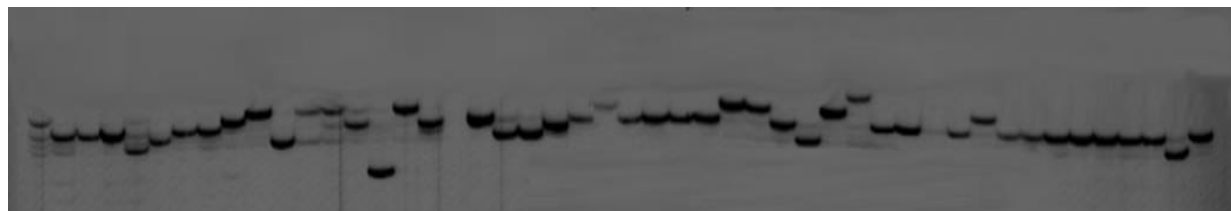
چندشکلی نشانگرهای ریزماهواره: از ۶۴ جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی از نوع GBM، BMAC، EBMAG، BMAG، HVM و SCSSR، ۴۵ جفت آغازگر الگوی نواری چندشکلی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ایجاد کردند. شکل ۱ الگوی نواری حاصل از جفت آغازگر EBMATC0016 را در تعدادی از ژنوتیپ‌های جو نشان می‌دهد. در مجموع، ۲۲۵ آلل با دامنه ۲ (برخی از آغازگرهای GBM و آغازگر SCSSR25538 تا ۱۴ (آغازگر BMAC0507) با میانگین ۵ آلل به ازای هر جایگاه تکثیر شد (جدول ۲).

ساختار جمعیت ژنوتیپ بومی جو کشورهای مختلف با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و مقایسه آن با تنوع تعدادی از ارقام تجاری و لاین اصلاحی بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه، شامل ۶۹ ژنوتیپ بومی جو ایران، ۲۳ ژنوتیپ بومی چین، ۱۲ ژنوتیپ بومی مصر، ۱۵ ژنوتیپ بومی از سایر کشورها، ۹ لاین پیشرفته اصلاحی و ۱۶ رقم تجاری بود که از موسسه تحقیقات دیم کشور تهیه گردید. جهت استخراج DNA ژنومی از هر ژنوتیپ ۱۵ بذر در گلخانه کشت و نمونه‌ها در مرحله چند برگی به‌صورت بالک از هر ژنوتیپ برداشت شدند. استخراج DNA به روش CTAB (Saghi-Marooft *et al.*, 1984) انجام و کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتری تعیین گردید. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، نمونه‌ها به حجم ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱/۵ نانوگرم از هر کدام آغازگرهای پیشرو و پسرو، کلرید منیزیم با غلظت ۲ میلی مولار، مخلوط نوکلئوتیدها با غلظت ۲ میلی مولار و ۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase انجام شد. از ۶۴ جفت آغازگر SSR جو برای ارزیابی افراد مورد مطالعه استفاده شد که ابتدا تکثیرپذیری این آغازگرها روی ۳-۴ فرد به‌طور تصادفی بررسی و شرایط بهینه برای آن‌ها تعیین گردید. در جدول ۱، جایگاه کروموزومی و دمای اتصال آغازگرهای مورد استفاده آورده شده است.

تفکیک محصولات تکثیری توسط ژل پلی‌آکرلامید ۴ درصد با ضخامت ۰/۲ میلی‌متر و در دستگاه ژل‌اسکن ۳۰۰۰ (شرکت Corbett Robotics، استرالیا) انجام گرفت. در این سیستم آشکارسازی بر اساس رنگ‌آمیزی اتیدیوم‌برماید و توسط لیزر صورت می‌گیرد. الگوی نواری نشانگرهای چندشکل به‌صورت یک (وجود آلل) و صفر (عدم وجود آلل) امتیازدهی شد. علاوه بر این، برای هر جایگاه تعداد آلل و فراوانی آللی برآورد گردید. برای



شکل ۱- الگوی نواری نشانگر EBMATC0016 در تعدادی از ژنوتیپ‌های بومی جو ایران

Figure 1. Banding pattern of microsatellite marker EBMATC0016 in some of the Iranian barley genotypes

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای ریزماهواره جو مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

Table 1. The characteristics of microsatellite primers used in polymerase chain reaction (PCR)

نام نشانگر	کروموزوم	دمای اتصال	نام نشانگر	کروموزوم	دمای اتصال
Marker name	Chorosome	Annealing Temperature (°C)	Marker name	Chorosome	Annealing Temperature (°C)
TACMD	4H	E	GBM1411	1H	F/60*
HVBAMY	4H/5H	F/53	GBM1480	1H	F/60
GBM1295	5H	F/60	GBM1487	1H	F/60
GBM5028	5H	F/60	HVM63	1H/2H	E**
SCSSR10148	5H	F	BMAG0813	2H	E
BMAC0163	5H	F	BMAG378	2H	E
GBM1325	5H	F/60	GBM1149	2H	F/60
GBMS141	5H/7H	E/53	GBM1251	2	F/60
BMAC0282	5H/7H	E	GBM1408	2H	F/60
GBM1075	6H	F/60	SCSRR12344	2H	E
GBM1267	6H	F/60	SCSSR10226	2H	F
GBM1276	6H	F/60	BMAC0209	3H	F/58
GBM1404	6H	F/60	BMAG0013	3H	F
HVM74	6H	A	EBMAC0871	3H	E
BMAG0807	6H/7H	E	GBM 1450	3H	F/60
BMAG0174	6H/7H	F	GBM1405	3H	F/60
BMAC0167	7H	E	GMS116	3H	E
BMAG0507	7H	F	Hv13GEIII	3H	F
BMAG0516	7H	F/55	SCSSR25538	3H	E
EBMAG0794	7H	F/49	GBM1300	3H	F/60
EBMATC0016	7H	57/E	GBM1420	3H	F
GBM1116	7H	F/60	HVM70	3H	A
GBM1297	7H	F/60	BMAC0310	4H	E
GBM1413	7H	E	BMAG0375	4H	E
GBM1419	7H	F/60	EBMAC0635	4H	F
GBM1428	7H	F/60	EBMAC0788	4H	F
GMS046	7H	E	EBMAC0906	4H	E
BMAC0064	7H	E/58	GBM1422	4H	F/60
BMAG0109	7H	F	GBM1482	4H	F/60
BMAG0135	7H	E	BMAC0084	4H	F/54
GBM1494	7H	F/60	BMAC0181	4H	E/58
GBM1552	-	F/60	GBM1364	4H	F

*: چرخه حرارتی شامل یک چرخه ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴ دقیقه و ۳۰ چرخه با ۹۴ درجه سانتی‌گراد با ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد (برخی آغازگرها با دمای ذکر شده تکثیر مناسب دادند) ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه و در نهایت یک چرخه ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه.

** : چرخه حرارتی شامل یک چرخه ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴ دقیقه و ۳۰ چرخه با ۹۴ درجه سانتی‌گراد با ۱ دقیقه، ۵۸ درجه سانتی‌گراد (برخی آغازگرها با دمای ذکر شده تکثیر مناسب دادند) ۱ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱ ثانیه و در نهایت یک چرخه ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه.

* Thermal cycling conditions included denaturation at 94°C for 4 min and 30 cycle at 94°C for 30 sec, annealing at 60°C for 30 sec and finally cycle at 72°C for 10 min.

** Thermal cycling conditions included denaturation at 94°C for 4 min and 30 cycle at 94°C for 1 min, annealing at 58°C for 1 sec, 72°C for 1 sec and finally one cycle at 72°C for 10 min.

جدول ۲- میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)، هتروزیگوسی مشاهده شده، تنوع ژنی، تعداد آلل و فراوانی آلل شایع برای

نشانگرهای ریزماهواره جو

Table 2. The polymorphism information content (PIC) value, amount of heterozygosity, gene diversity, allele No. and frequency of more common allele for SSR markers in relation to barley genotypes

نشانگر Marker	فراوانی آلل شایع Frequency of more common allele	تعداد آلل Allele No.	تنوع ژنی Gene diversity	هتروزیگوسی Heterozygosity	محتوای اطلاعات چندشکلی PIC
GBM1482	0.44	6.00	0.72	0.00	0.68
SCSSR10148	0.45	8.00	0.74	0.00	0.71
GMS116	0.18	10.00	0.88	0.00	0.86
BMAC0310	0.39	8.00	0.77	0.00	0.74
EBMAG0794	0.80	3.00	0.34	0.00	0.31
GBM1413	0.41	6.00	0.74	0.00	0.75
EBMAC0906	0.29	8.00	0.79	0.00	0.76
EBMATC0016	0.22	11.00	0.84	0.06	0.83
GBMS141	0.23	10.00	0.85	0.00	0.84
HVM74	0.22	10.00	0.86	0.00	0.84
BMAG0507	0.15	14.00	0.90	0.00	0.89
BMAG0516	0.29	8.00	0.83	0.00	0.80
BMAG0807	0.63	5.00	0.55	0.00	0.50
BMAG0813	0.31	9.00	0.81	0.01	0.79
EBMAC0635	0.30	11.00	0.84	0.07	0.82
EBMAC0788	0.13	12.00	0.91	0.01	0.90
EBMAC0871	0.23	8.00	0.84	0.00	0.82
GBM1267	0.84	2.00	0.27	0.00	0.24
GBM1251	0.63	3.00	0.50	0.00	0.43
GBM1075	0.65	3.00	0.50	0.00	0.44
BMAG0375	0.50	3.00	0.63	0.00	0.56
GMS046	0.70	3.00	0.47	0.00	0.42
GBM5028	0.60	2.00	0.48	0.00	0.37
GBM1419	0.94	3.00	0.11	0.01	0.11
SCSSR25538	0.81	2.00	0.31	0.00	0.26
BMAC0167	0.55	3.00	0.56	0.00	0.48
BMAC0209	0.36	7.00	0.74	0.00	0.70
GBM1411	0.97	2.00	0.06	0.00	0.05
GBM1405	0.58	3.00	0.57	0.02	0.51
GBM1404	0.96	2.00	0.08	0.00	0.08
GBM1297	0.93	2.00	0.13	0.00	0.12
SCSRR12344	0.65	3.00	0.52	0.00	0.46
HVI3	0.67	3.00	0.48	0.00	0.42
GBM1552	0.84	2.00	0.26	0.13	0.23
GBM 1450	0.47	3.00	0.57	0.00	0.48
GBM1480	0.76	2.00	0.37	0.00	0.30
GBM1408	0.94	2.00	0.12	0.00	0.11
GBM1422	0.56	4.00	0.61	0.00	0.55
GBM1276	0.62	3.00	0.53	0.00	0.47
GBM1295	0.72	2.00	0.40	0.00	0.32
GBM1428	0.56	2.00	0.49	0.00	0.37
HVBAMY	0.57	3.00	0.58	0.00	0.51
BMAG0013	0.35	6.00	0.72	0.00	0.67
GBM1149	0.90	2.00	0.19	0.00	0.17
GBM1116	0.86	2.00	0.25	0.00	0.22
میانگین (Mean)	0.56	5.02	0.55	0.01	0.51

نشانگرهای کروموزوم‌های 1H با چهار و میانگین دو و 7H با ۷۲ و میانگین ۵/۴ آلل به ازای هر نشانگر به ترتیب کمترین و بیشترین تعداد آلل را دارا بودند. میانگین PIC برابر ۰/۵۱ با دامنه ۰/۰۵ تا ۰/۹۰ به ترتیب برای آغازگرهای GBM1411 و EBMAC0788 به دست آمد. دامنه تنوع ژنی نی بین ۰/۰۵ برای نشانگر GBM1411 تا ۰/۹۱ برای نشانگر EBMAC0788 با میانگین ۰/۵۵ متغیر بود. فراوانی آلل شایع نیز در آغازگرهای مورد بررسی در محدوده ۰/۱۳ برای آغازگر EBMAC0788 با ۱۲ آلل و ۰/۹۷ برای آغازگر GBM1411 با دو آلل و میانگین ۰/۵۶ به دست آمد. در بین نشانگرهای مورد استفاده بیشترین فراوانی آلل شایع، کمترین میزان تنوع ژنی و PIC مربوط به نشانگر GBM1411 بود که نشان‌دهنده همبستگی منفی بین فراوانی آلل شایع با این پارامترها است. فراوانی آلل شایع کمترین میزان همبستگی را با تعداد آلل (۰/۸۸-) داشت. درحالی‌که بیشترین همبستگی را با تنوع ژنی نی (۰/۹۸-) و PIC (۰/۹۸-) نشان داد. میزان هتروزیگوتی از صفر برای اغلب نشانگرها تا ۰/۱۳ برای نشانگر GBM1552 با میانگین ۰/۰۰۷ در ژنوتیپ‌های مورد استفاده متغیر بود.

زونگ یان و همکاران (Zong-Yun et al., 2006) در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰۶ ژنوتیپ وحشی جو با استفاده از ۳۰ آغازگر SSR، تعداد آلل را از ۲ تا ۱۶ و با میانگین ۷/۶ آلل به ازای هر جایگاه و میزان تنوع ژنتیکی را از ۰/۹۷ تا ۰/۱۲ با متوسط ۰/۵۷ گزارش کردند. در این مطالعه به علت تنوع بالای ارقام وحشی نسبت به ارقام بومی، میانگین تعداد آلل به ازای هر جایگاه از مطالعه حاضر بیشتر بود. میانگین تعداد آلل در مطالعات جونز و همکاران (Jones et al., 2011)، حمزا و همکاران (Hamza et al., 2004)، یاهیاوی و همکاران (Yahiavi et al., 2008) و پندی و همکاران (Pandey et al., 2004) بود. علت تفاوت در میانگین تعداد آلل در مطالعات مختلف، به دلیل تفاوت در تعداد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، پایه ژنتیکی آن‌ها و تعداد

نشانگر مورد استفاده است. کادری و مکاران (Kadri et al., 2002) با مطالعه ۱۴ نمونه جو بومی و زراعی با استفاده از ۱۵ جفت نشانگر SSR، میانگین PIC و تعداد آلل به ترتیب ۰/۵۳ و ۲/۸۷ به دست آوردند. میانگین تنوع ژنی نی در مطالعه استام و همکاران (Stam et al., 2007) بین ۰/۰۳ تا ۰/۸۹ و ایواندیک و همکاران (Ivandic et al., 2002) بین ۰/۲۵ تا ۰/۷۹ بود. ماتوس و هایز (Matus and Hayes, 2002) بیان کردند که تنوع ژنی بالا قدرت بالای نشانگرها را در تشخیص و تفکیک دقیق ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهد. گنج‌خانلو و همکاران (Ganje-Khanloo et al., 2012) با بررسی تنوع ژنتیکی ۳۵ ژنوتیپ جو بر اساس ۴۴ جفت آغازگر ریزوماهواره، ۲۶۸ آلل چندشکل با میانگین ۷/۴۴ آلل به ازای هر جایگاه تکثیر کردند. متوسط PIC، هتروزیگوسی، تنوع ژنی و فراوانی آلل شایع به ترتیب برابر ۰/۳۴، ۰/۰۳، ۰/۷۸ و ۰/۳۱ بود. عبدالحی سیدی و همکاران (Abdollahi-Sisi et al., 2012) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های بومی جو مورد بررسی در مطالعه حاضر با استفاده از نشانگرهای EST-SSR، تعداد آلل را از ۲ تا ۹ با میانگین ۴/۱۴ آلل به ازای هر جایگاه و متوسط PIC ۰/۵۲ و تنوع ژنی نی ۰/۵۸ برآورد کردند.

تجزیه واریانس مولکولی

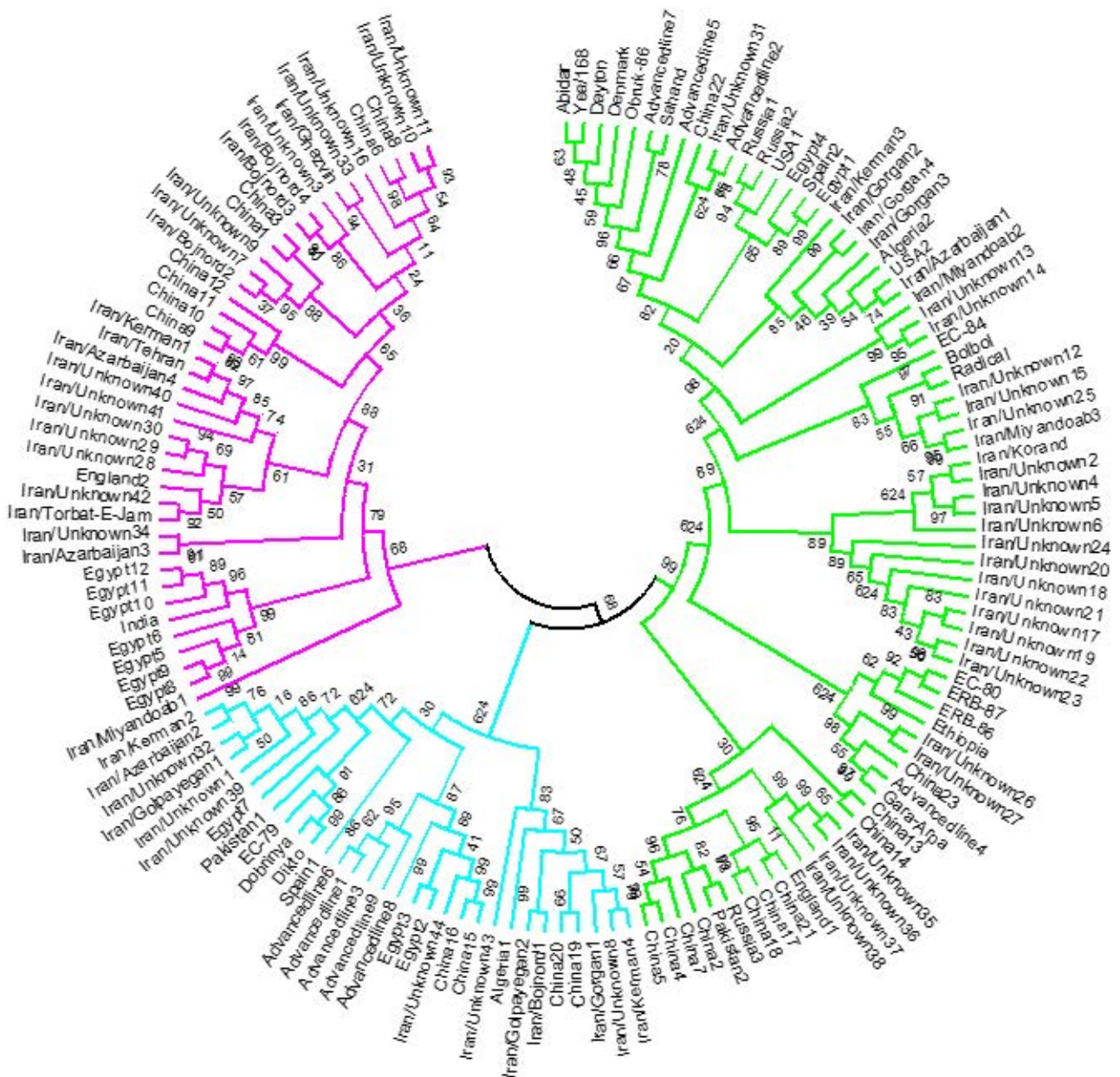
با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی بر اساس جغرافیایی ژنوتیپ‌ها و داده‌های SSR، واریانس درون و بین گروهی به ترتیب ۹۴ و ۶ درصد برآورد گردید. زوقلامی و همکاران (Zoghلامي et al., 2012) در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۳ جمعیت جو بومی تونس با استفاده از ۱۱۷ نشانگر چندشکل RAPD گزارش کردند که ۸۵/۶ درصد از واریانس کل توسط واریانس درون جمعیت‌ها تبیین می‌شود. کاندمیر و همکاران (Kandemir et al., 2010) نیز در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو، بیشترین واریانس مولکولی را در درون جمعیت‌ها (۸۴/۹ درصد) نسبت به بین جمعیت‌ها برآورد کردند. عابد و همکاران (Abede et al., 2012) در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۱۹

ژنوتیپ بومی جو از ۱۰ منطقه مختلف جغرافیایی اتیوپی، بیشترین واریانس را در درون مناطق گزارش کردند. آن‌ها علت این امر را به تنوع در تغییرات بارندگی و خاک، تنوع اکولوژیکی و دمایی نسبت دادند. در این مطالعه نیز، تنوع درون‌گروهی بالا احتمالاً ممکن است ناشی از عوامل فوق باشد. تفکیک واریانس درون گروهی به واریانس درون گروه‌های منفرد نیز نشان داد که ژنوتیپ‌های بومی ایران (۳۳/۶۷) بیشترین و ژنوتیپ‌های بومی مصر (۲۸/۹۵) کمترین میزان واریانس درون گروهی کل را به خود اختصاص دادند. همچنین بیشترین شاخص اطلاعات شانون (۱/۰۷) و تنوع ژنی نی (۰/۵۴) مربوط به ژنوتیپ-های بومی ایران و کمترین مقدار برای شاخص اطلاعات شانون (۰/۷۴) و تنوع ژنی (۰/۴۱) مربوط به ژنوتیپ‌های بومی مصر بود. که نشان از تنوع بسیار مناسب ژنوتیپ-های بومی ایران نسبت به ژنوتیپ‌های بومی سایر مناطق جغرافیایی در این مطالعه بود. کنبر و کاتسوهیکو (Kanbar and Katsuhiko, 2011) در بررسی تنوع ژنتیکی ۲۰ ژنوتیپ بومی جو ژاپن و سوریه با استفاده از ۲۹ ترکیب نشانگری ISSR و RAPD، واریانس درون جمعیتی را در مجموع داده‌های این دو نشانگر بالاتر (۶۶ درصد) از واریانس بین جمعیتی (۳۴ درصد) گزارش کردند. آن‌ها تنوع ژنتیکی بالاتری را در درون ژنوتیپ‌های سوریه با شاخص شانون ۰/۳۲ و نسبت چندشکلی ۰/۲۲ نسبت به ژنوتیپ‌ها ژاپن مشاهده کردند.

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها

شکل ۲ گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها را بر اساس الگوریتم Minimum-Evolution و ضریب فاصله P-distance با استفاده از داده‌های SSR نشان می‌دهد. برش دندروگرام بر اساس اعداد بوت‌استرپ و فاصله بین گروه‌ها، ژنوتیپ‌ها را به سه گروه منتسب کرد. در گروه I، ۳۲ ژنوتیپ‌های بومی ایران از نواحی آذربایجان، میاندوآب، کرند، کرمان و گرگان به ترتیب ۱۱، ۲، ۱۰ و ۱۷ ژنوتیپ بومی چین، مصر، سایر کشورها (آمریکا، روسیه، اسپانیا، الجزایر، اتیوپی، انگلستان و پاکستان) و لاین و رقم

اصلاحی بودند. گروه II شامل ۱۶ ژنوتیپ بومی ایران از نواحی کرمان، آذربایجان، بجنورد، گلپایگان، گرگان و به ترتیب ۴، ۳ و ۳ ژنوتیپ بومی چین، مصر و سایر کشورها (اسپانیا، پاکستان و الجزایر) بود. پنج لاین اصلاحی پیشرفته و سه رقم تجاری نیز در این گروه قرار گرفتند. گروه III شامل ۴۱ ژنوتیپ که ۲۴ ژنوتیپ بومی ایرانی (از مناطق بجنورد، قزوین، آذربایجان، تربت جام و میاندوآب) و به ترتیب ۸، ۷ و ۲ ژنوتیپ بومی چین، مصر و سایر کشورها (انگلستان و هندوستان) بودند. با توجه به گروه‌بندی حاصل مشاهده می‌شود که بیشتر ژنوتیپ‌های بومی ایران و چین به علت تعداد زیاد و نیز تنوع اقلیمی در اکثر گروه‌ها پخش بودند که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بسیار بالای درون این مناطق می‌باشد. کاندمیر و همکاران (Kandemir et al., 2010) تنوع ژنتیکی موجود در سه گروه ژنوتیپ جو (ژنوتیپ‌های بومی، لاین خالص و ارقام تجاری) با منشأ ترکیه را با استفاده از ۳۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند. با استفاده از ۷۰ آل تولید شده ژنوتیپ‌ها به پنج گروه تقسیم شدند. ارقام تجاری، یک ژنوتیپ بومی و یک لاین خالص در یک گروه و بقیه ژنوتیپ‌ها بومی در چهار گروه باقی‌مانده قرار گرفتند. جیا و همکاران (Jia et al., 2010) تنوع ژنتیکی ۸۸ ژنوتیپ بومی، تجاری منشأ چین و تجاری منشأ غیر چین را با استفاده از ۳۳ جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از تجزیه گروه‌بندی با استفاده از الگوریتم UPGMA ژنوتیپ‌ها را به دو گروه منتسب کرد به طوری که در حدود ۹۰ درصد از ژنوتیپ-های بومی چین در گروه ۲ و بقیه ژنوتیپ‌های بومی چین و همچنین ارقام تجاری منشأ غیر چین در گروه ۱ قرار گرفتند. لیسوا و کوسرا (Lisova and Kucera, 2010) تنوع ژنتیکی ۶۲۲ ژنوتیپ دو ردیفه و شش ردیفه جو، شامل ژنوتیپ‌ها بومی، تجاری قدیم و جدید، لاین‌های اینبرد و لاین‌های مقاوم به برخی بیماری‌های جو از ۲۷ کشور مختلف دنیا را با استفاده از ۴۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد مطالعه قرار دادند. این ژنوتیپ‌ها در



شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه بر اساس داده‌های نشانگرهای ریزماهواره و با استفاده از الگوریتم

P-distance و ضریب فاصله Minimum Evolution

Figure 2. Grouping of the studied barley genotypes based on SSR marker data using the Minimum Evolution algorithm and P-distance coefficient

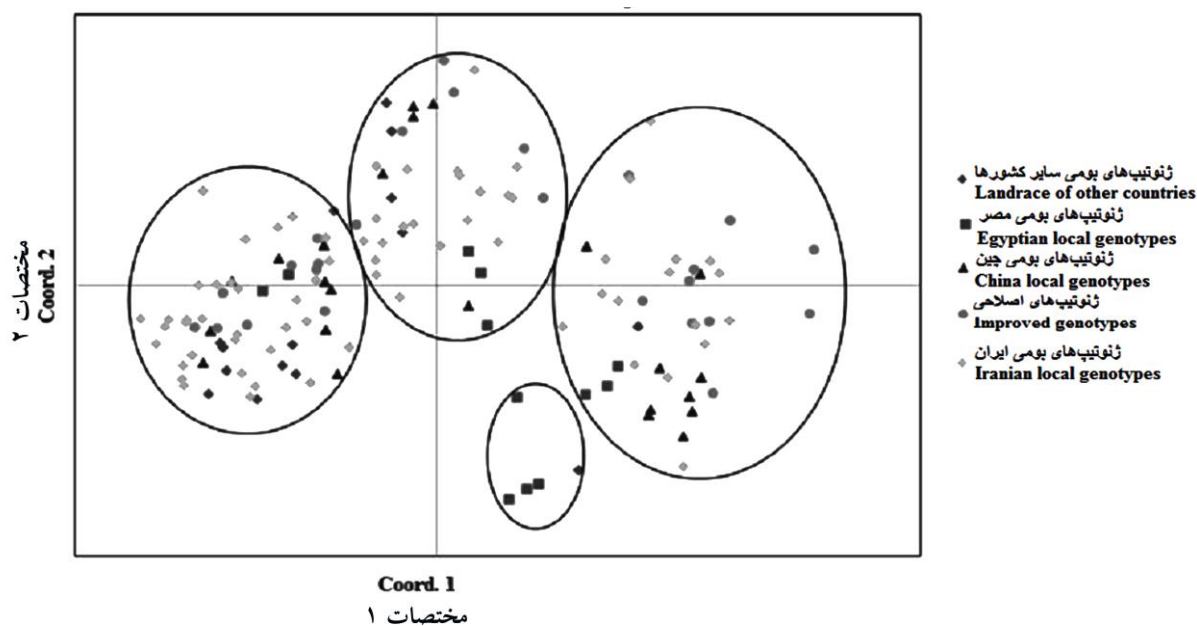
آن‌ها اعلام داشتند که الگوی گروه‌بندی با منشأ جغرافیایی ژنوتیپ‌ها مطابقت ندارد. حمزا و همکاران (Hamza et al., 2004) در تجزیه گروه‌بندی ۲۶ ژنوتیپ جو شامل ۱۶ ژنوتیپ بومی کشور تونس با منشأ متفاوت جغرافیایی، هفت ژنوتیپ شش ردیفه و ۳ ژنوتیپ دو ردیفه جو که در نوع استفاده نهایی نیز متفاوت بودند، بر اساس

تجزیه خوشه‌ای به شش گروه منتسب شدند یک گروه فقط شامل ژنوتیپ‌ها دوردیفه بود، بقیه ژنوتیپ‌ها دوردیفه بود، بقیه ژنوتیپ‌ها دو ردیفه در گروه‌های دیگر پراکنده شدند. ارقام جدید اصلاحی و لاین‌های اینبرد با هم در دو گروه قرار گرفتند در حالی که بقیه ژنوتیپ‌ها بومی و تجاری قدیم با هم در سایر گروه‌ها قرار گرفتند.

الگوریتم UPGMA، در نقطه برش دندروگرام، چهار گروه ایجاد کردند. گروه اول شامل همه ژنوتیپ‌های دانه‌ای بومی کشور تونس و یک زیرگروه شامل سه ژنوتیپ علوفهای بومی این کشور بود. گروه دوم شامل دو ژنوتیپ شش ردیفه دانه‌ای، گروه سوم، سه ژنوتیپ دو ردیفه و گروه چهارم شامل یک ژنوتیپ جو دانه‌ای بود. نشانگرهای ریزماهواره قادر بودند تا ژنوتیپ‌ها بومی تونس و حتی ژنوتیپ‌های دارای منشأ و نام مشترک را از یکدیگر متمایز کنند. تمایز ایجاد شده در بین ژنوتیپ‌ها با خوشیاوندی بسیار نزدیک از هتروژنی بالای موجود در بین ژنوتیپ‌ها بومی منشأ می‌گیرد. به‌طوری‌که این هتروژنی حتی در بین ژنوتیپ‌های بومی در مزارع مختلف یک منطقه (یک ژنوتیپ محلی) که به یک نام یکسان مشخص شده‌اند نیز وجود دارد. چن و همکاران (Chen *et al.*, 2012) عدم مطابقت الگوی گروه‌بندی با منشأ جغرافیایی در تجزیه کلاستر، می‌تواند دو دلیل داشته باشد، یکی اینکه تعداد نشانگرهای استفاده شده کافی نبوده و تمامی ژنوم را پوشش نداده‌اند و دیگری وجود یکسری مضاعف شدگی‌ها در ژرم‌پلاسم پس از ذخیره طولانی مدت و استفاده مجدد باعث بروز یکسری اشتباهات و در نتیجه تفکیک این ژنوتیپ‌های یکسان از یکدیگر می‌شوند. همچنین از آنجا که تنوع موجود در ارقام بومی تحت تأثیر گزینش طبیعی (گزینش تحت تأثیر شرایط محیطی)، گزینش مصنوعی (گزینش توسط کشاورز) و جهش قرار می‌گیرد، در نتیجه تفکیک ایجاد شده با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره به‌طور کامل با جغرافیایی ارقام مطابقت ندارد. عبدالهی سیدی و همکاران (Abodolahi sisi *et al.*, 2012) نیز عدم قرار گرفتن ژنوتیپ‌های بومی با منشأ جغرافیای مشترک را در کنار هم به پراکنش جغرافیای وسیع آن‌ها و همچنین تأثیر نیروهای تکاملی متفاوت بر ساختار ژنتیکی آن‌ها اظهار داشتند.

تجزیه به بردارهای اصلی

در تجزیه به بردارهای اصلی سه بردار اصلی اول به‌ترتیب ۳۷/۲۲، ۱۶/۰۶ و ۱۳/۰۴ درصد و در مجموع ۶۶/۳۲ درصد تغییرات مولکولی کل را تبیین کردند. تبیین حدود ۶۶ درصد تغییرات مولکولی کل توسط سه بردار اول نشان دهنده ارتباط بین نشانگرهای مورد استفاده و یا به‌عبارت دیگر نشانگرها دارای پراکنش نسبی در ژنوم می‌باشند (Mohammadi and Prasanna, 2003). افراد بر اساس دو بردار اول در شکل ۳ نشان داده شده است. با استفاده از این نمودار ژنوتیپ‌ها به چهار گروه منتسب شده‌اند. اکثر ژنوتیپ‌های بومی ایران و سایر کشور دارای مقادیر پایین برای بردار اول و مقادیر بالا برای بردار دوم بودند و بالعکس. این موضوع مقادیر بالا برای بردار اول و مقادیر پایین برای بردار دوم، برای ژنوتیپ‌های بومی مصر نشان از تفاوت قابل ملاحظه ساختار ژنتیکی این دو نوع از ژنوتیپ‌ها می‌باشد. ژنوتیپ‌های بومی چین نیز به‌علت تنوع زیاد دارای مقادیر متفاوتی از دو بردار بودند. نتایج حاصل تا حدود زیادی با نتایج تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت. جیا و همکاران (Jia *et al.*, 2010) در بررسی تنوع ژنتیکی ۸۸ ژنوتیپ بومی، تجاری منشأ چین و تجاری منشأ غیر چین با استفاده از ۳۳ نشانگر ریزماهواره گزارش کردند که در تجزیه به بردارهای اصلی دو بردار اول ۴۳/۲ درصد از واریانس کل را توجیه می‌کند و پراکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس این دو بردار دو گروه مجزا را تشکیل دادند به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های بومی چین در هر دو گروه و ارقام تجاری چین و غیر چین تقریباً از هم جدا شدند. لیسوا و کوسرا (Lisova and Kusera, 2010) تنوع ژنتیکی ۶۲۲ ژنوتیپ مختلف جو شامل ژنوتیپ‌های بومی، تجاری قدیم و جدید، لاین‌های اینبرد و لاین‌های مقاوم به برخی بیماری‌های جو از ۲۷ کشور مختلف دنیا با استفاده از ۴۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد ارزیابی قرار دادند. تجزیه به بردارهای اصلی بر اساس سه بردار اول ژنوتیپ‌ها را به دو گروه تقسیم کردند. گروه کوچک‌تر شامل بیشتر



شکل ۳- پراکنش ژنوتیپ‌های جو بر اساس دو بردار اول حاصل از تجزیه به بردارهای اصلی با استفاده از داده‌های حاصل از نشانگرهای ریزماهواره

Figure 3. Distribution of barley genotypes based on two principal coordinates resulted from principal coordinate analysis, using microsatellite data

قابل توجه بود که با توجه به ارزشمندی این ارقام، می‌توان از این‌ها برای ایجاد جمعیت‌های پایه اصلاحی استفاده کرد و اگر تنوع در برخی صفات در این ارقام موجود نبود می‌توان از ارقام بومی برای جبران این کمبود استفاده کرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از موسسه تحقیقات دیم کشور و بانک ژن گیاهی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کشور برای فراهم کردن مواد گیاهی قدردانی می‌شود. این تحقیق با حمایت مالی قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز و در آزمایشگاه ژنومیک و اصلاح نباتات مولکولی دانشگاه تبریز انجام شد.

ژنوتیپ‌های بهاره و تعدادی از ارقام تجاری قدیم و لاین‌های خالص بود و گروه بزرگ‌تر شامل بیشتر ژنوتیپ‌های زمستانی و برخی از ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری‌ها بود. این مطالعه نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره می‌توانند به‌عنوان ابزار مناسبی برای بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسماها به‌کار روند. در این تحقیق ۴۵ جفت آغازگر چندشکلی قابل قبولی را در ارقام مورد مطالعه ایجاد کردند. نتایج آزمایش نشان داد که تنوع بسیار بالایی در درون ارقام بومی بخصوص ژنوتیپ‌های بومی ایران وجود دارد که می‌توان از این تنوع برای انجام برنامه‌های اصلاحی مختلف استفاده کرد. تنوع ژنتیکی موجود در بین ارقام تجاری و لاین‌های اصلاحی نیز

References

- Abdollahi-Sisi, N., Mohammadi, S.M., Alavi-kia, S.S. and Sadeghzadeh, B. (2012). Efficiency of EST-SSR markers in determination genetic diversity and relationships of barley landraces. *Cereal Research*, 93:123- 133.
- Abede, T.D., Mathew, B. and Le'on, J. (2013). Barrier analysis detected genetic discontinuity among Ethiopian barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces due to landscape and human mobility on

- gene flow *Genetic Resources and Crop Evolution*, **60**: 297–309.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W.** (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, **32**: 314-331.
- Brush, S. and Meng, E.** (1998). Farmer's valuation and conservation of crop genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **45**: 139-150.
- 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. *Genetic and Molecular Research*, **11**: 644-650.
- Condon, F., Charles-Gustus, D., Rasmusson, C. and Kevi, D.S.** (2008). Effect of advanced cycle breeding on genetic diversity in barley breeding germplasm *Crop Science*, **48**: 1027-1036.
- Ebrahimi, A., Naghavi, M.R., Sabokdast, M. and Mardi, M.** (2010). Assessment of genetic diversity in two accessions of barley species (*H. vulgare* L. and *H. pontaneum* L.) using SSR markers. *Iranian Journal of Crop Sciences*, **12**: 333- 345 (In Persian).
- Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J.M.** (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**: 479-491.
- FAO.** (2013). FAO Statistical Database (FAOSTAT), Web site at URL: <http://www.faostat.fao.org>, Accessed 18 July 2013.
- Ganjekhanloo, A., Mohammadi, S.A., Moghaddam, M., Shakiba, M.R., Ghasemi-Golezani, K. and Yousefi, A.** (2012). Genetic diversity in barley as revealed by microsatellite markers and association analysis of these markers by traits related to freezing tolerance. *Seed and Plant Improvement Journal*, **28**: 101-114 (In Persian).
- 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.
- Hamza, S., Hamida, W.B., Rebai, A. and Harrabi, M.** (2004). SSR-based genetic diversity assessment among Tunisian winter barley and relationship with morphological traits. *Euphytica*, **135**: 107-118.
- Heidari, A., Mohammadi, S.A., Moghaddam, M., Shakiba, M.R., Ghasemi-Golezani, K. and Yousefi, A.** (2011). Analysis of genetic diversity in barley genotypes using SSR and EST-SSR markers *Iranian Journal of Crop Sciences*, **13**: 146-156 (In Persian).
- Ivandic, V., Hackett, C.A., Nevo, E., Keith, R., Thomas, W.T. and Forster, B.P.** (2002). Analysis of simple sequence repeats (SSRs) in wild barley from the Fertile Crescent: associations with ecology, geography and flowering time. *Plant Molecular Biology*, **48**: 511-527.
- Jia, Q.J., Zhu, J.H., Wang, J.M. and Yang, J.M.** (2010). Fusarium head blight evaluation and genetic diversity assessment by simple sequence repeats in 88 barley cultivars and landraces. In: *Proceedings of the 10th International Barley Genetics Symposium* (Ceccarelli, S. and Grando, S., Eds.) PP. 298-311, ICARDA, Aleppo, Syria.
- Jones, H., Civán, P., Cockram, J., Leigh, F.J., Smith, L.M.J., Jones, M.K., Charles, M.P., Molina-Cano, J., Powell, W., Jones, G. and Brown, T.A.** (2011). Evolutionary history of barley cultivation in Europe revealed by genetic analysis of extant landraces. *B. M. C. Evolutionary Biology*, **11**: 320-332.
- Joshi, S.P., Ranjekar, P.K. and Gupta, V.S.** (1999). Molecular markers in plant genome analysis. *Current Science*, **77**: 230-240.
- Kadri, K., Abdellawi, R. and Cheikh-Mhamed, H.** (2009). Genetic diversity in local Tunisian

- barley based on RAPD and SSR analysis. *Biological Diversity and Conservatio*, **2**: 27-35.
- Kanbar, A. and Katsuhiko, K.** (2011). Efficiency of ISSR and RAPD dominant markers in assessing genetic diversity among Japanese and Syrian cultivars of barley (*H. vulgare* L.). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, **7**: 4-10.
- Kandemir, N., Yildirim, A. and Gunduz, R.** (2010). Determining the levels of genetic variation using SSR markers in three Turkish barley materials known as Tokak. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **34**: 17-23.
- Karim, K., Rawda, A. and Hatem, C.** (2010). Genetic diversity in Tunisian local barley based on RAPD and SSR analysis. *African Journal of Biotechnology*, **9(44)**: 7429-7436.
- Leišová, L. and Kučera, L.** (2010). The use of microsatellites to screen barley genotypes for resistance to net blotch. In: *Proceedings of the 10th International Barley Genetics Symposium*, Eds. Ceccarelli, S. and Grando, S, PP. 298-311. ICARDA, Aleppo, Syria
- Liu, K. and Muse, S.V.** (2005). Power Marker: an integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, **21**: 2128-2129.
- Mango, T., Carrierosu, F., Cifavell, R.A., Gallitelli, M. and Callini, F.** (2001). Development of microsatellite markers in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp *durum*). *Chinese Journal of Genetics*, **33**: 917-928.
- 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.
- Mohammadi, S.A. and Prasanna, B.M.** (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, **43**: 1235-1248.
- Nei, M.** (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **70**: 3321-3323.
- Pandey, M.P., Wagner, C., Friedt, W. and Ordan, F.** (2004). Assessment of genetic diversity of hull-less barley germplasm in the high altitude Himalayas of Nepal. *Theoretical and Applied Genetics*, **113**: 715-729.
- Peakall, R. and Smouse, P.E.** (2006). GENALEX 6.4: Genetic analysis in Excel: population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, **6**: 288-295.
- Pillen, K., Binder, A., Kreuzkam, B., Ramsay, L., Waugh, R., Förster, J. and León, J.** (2000). Mapping new EMBL-derived barley microsatellites and their use in differentiating German barley cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, **101**: 652-660.
- Saghai Maroof, M.A., Solaiman, K., Tprgensen, R.A. and Allard, R.W.** (1984). Ribosomal DNA spacer-lenth polymorphism in barely: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **81**: 8014-8018.
- Stam, B.K., Bothmer, A., Dayteg, R., Rashal, C., Tuveesson, S. and Weibullj, S.** (2007). Genetic diversity changes and relationships in spring barley germplasm of Nordic and Baltic areas as shown by SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **16**: 749-758.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S.** (2011). MEGA 5: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software, version 5.0. *Molecular Biologyand Evolution*, **24**: 1596-1599.
- Wang, M.L., Barkley, N.A., Yu, J.K., Dean, R.E., Newman, M.L., Sorrells, M.E. and Pederson, G.A.** (2005). Transfer of simple sequence repeat (SSR) markers from major cereal crops to minor grass species for germplasm characterization and evaluation. *Plant Genetic Resources*, **3**: 45-57.
- Yahiavi, S., Igartua, E., Moralejo, M., Ramsay, L., Molina-Cano, J.L., Ciudad, F.J., Lasa, J.M., Gracia, M.P. and Casas, A.M.** (2008). Patterns of genetic and eco-geographical diversity in Spanish barleys. *Theoretical and Applied Genetics*, **116**: 271-282.

- Yeh, F.C., Yang, R.C. Boyle, T.B.J., Ye, Z.H. and Mao, J.X.** (1997). POPGENE, the User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre. University of Alberta, Canada.
- Zhu, J., Gale, M.D., Quarrie S., Jackson, M.T. and Bryan, G.J.** (1998). AFLP markers for the study of rice biodiversity. *Theoretical and Applied Genetics*, **96**: 602-611.
- Zoghlami, N., Bouagila, A., Lamine, M., Hajri, H. and Ghorbel, A.** (2012). Population genetic structure analysis in endangered *Hordeum vulgare* L. landraces from Tunisia: conservation strategies. *African Journal of Biotechnology*, **10**: 10344-10351.
- Zong-Yun, F., Xian-Jun, L., Yi-Zheng, Z. and Hong-Qing, L.** (2006). Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using SSR markers. *Acta Genetica Sinica*, **33**: 917-928.

Molecular Analysis of Genetic Diversity and Relationships of Barley Landraces Based on Microsatellite Markers

Ali Shuorvazdi¹, Seyed Abuolghasem Mohammadi^{2,3,*}, Majid Norozi⁴ and Behzad Sadeghzadeh⁵

1- Former M.Sc. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3- Center of Excellence in Cereal Molecular Breeding, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4- Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

5- Assistant Professor, Dryland Agriculture Research Institute of Iran, Maragheh, Iran

(Received: November 10, 2013 – Accepted: February 3, 2014)

Abstract

Due to their adaptation to different environment conditions, landraces are valuable genetic resources for increasing diversity of breeding germplasms and are potential resources for biotic and abiotic stress resistant genes. In the present study, genetic diversity and relationships of 119 barely landraces from different countries along with 25 commercial varieties and breeding lines were assessed, using 45 microsatellite primer pairs. In total, 225 alleles range from 2 to 14 and an average of 5 alleles per locus were amplified. Polymorphic information content (PIC) varied from 0.05 to 0.90 with a mean of 0.51. The minimum and maximum frequency of common allele belonged to EBMAC0788 (0.13) and GBM1411 (0.97) markers, respectively. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed a higher within group variation (94%) than between group. Maximum and minimum Shannon's and Nei gene diversity indices were observed in Iranian and Egyptian landraces, respectively. Cluster analysis using Minimum Evolution algorithm and P-distance coefficient assigned the studied genotypes into three groups. This grouping was partly consistent with geographical origins of the genotypes.

Keywords: Genetic diversity, Germplasms, Barley landraces, Population structure

* Corresponding Author, E-mail: mohammadi@tabrizu.ac.ir