



بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ارتباط صفات فنولوژیک مرتبط با فرار از خشکی در لاین‌های جو با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

وحیده گوگردچی^۱، سارا دژستان^۲، مهدی ایزدی دوگونچی^۳، محمدعلی ابراهیمی^۴، علی اصغری^۵ و
بهزاد صادق‌زاده^۶

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور کرج، البرز
۲- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII) (تبریز)، استادیار، دانشگاه محقق اردبیلی، (نویسنده مسؤل: sdezhsetan@uma.ac.ir)
۳ و ۵- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشجویار، دانشگاه محقق اردبیلی
۴- دانشجویار، دانشگاه پیام نور تهران
۶- دانشجویار، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور (مراغه)
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۱۱

چکیده

بررسی تنوع ژنتیکی گامی مهم در بهره‌برداری از مواد گیاهی در برنامه‌های به‌نژادی است. در این مطالعه، تنوع ژنتیکی ۵۵ لاین جو با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین به‌منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات فنولوژیک و عملکرد مربوط به فرار از خشکی شامل صفات تعداد روز تا خوشه‌دهی، طول دوره پر شدن دانه، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، وزن هزار دانه و عملکرد در لاین‌های جو از نشانگرهای ریزماهواره استفاده شد. این صفات در شرایط دیم مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور، از برگ‌های جوان جو DNA استخراج گردید و محصولات تکثیر PCR با استفاده از ۳۵ جفت آغازگر ریزماهواره روی ژل الکتروفورز واسرشته‌ساز پلی‌اکریلامید ۴/۵٪ بارگذاری شدند که ۲۵ جفت آغازگر الگوی نواری واضح و چندشکل تولید کردند. در مجموع، ۱۸۶ نوار چندشکل شناسایی گردید. تعداد نوارهای چندشکل مشاهده‌شده از ۲ تا ۱۴ با میانگین ۷/۴۴ نوار به ازای هر جفت آغازگر متغیر بود. میزان اطلاعات چندشکلی برای آغازگرها از ۰/۱۸ تا ۰/۴۵ متغیر بود و میانگین آن ۰/۳۲ بود. لاین‌های جو مورد مطالعه با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به ۳ گروه تقسیم شدند، لاین‌ها تا حد مطلوبی بر اساس منشأ جغرافیایی از یکدیگر تفکیک شدند که بیانگر کارایی نشانگرهای ریزماهواره در تشخیص تفاوت‌ها و شباهت‌های ژنتیکی می‌باشد. همچنین، در تجزیه ارتباط ۲۴ نشانگر مثبت شناسایی گردید. شناسایی نشانگرهای مثبت می‌تواند در برنامه‌های مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات فنولوژیک و عملکرد مرتبط با فرار از خشکی مورد استفاده قرار گیرد و شناسایی ژنوتیپ‌های جو فرارکننده از خشکی را تسهیل کرده و موجب صرفه‌جویی در وقت، هزینه و نیروی انسانی گردد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه ارتباط، جو، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای ریزماهواره و صفات فنولوژیک مرتبط با فرار از خشکی

مقدمه

بودن جایگاه‌های کروموزومی، فراوانی و توزیع تقریباً تصادفی آن‌ها در ژنوم به‌عنوان ابزاری قدرتمند در مطالعات ژنتیکی شناخته می‌شوند (۲۴). در پژوهشی وانگ و همکاران (۳۵) تنوع ژنتیکی ۹۰ نمونه جو، شامل ۴۵ خویشاوند وحشی جو از منطقه تبت کشور چین و ۴۵ خویشاوند وحشی جو جمع‌آوری‌شده از کشورهای مختلف خاورمیانه را با استفاده از SSR و ISSR بررسی کردند، نتایج حاصل نشان داد که تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو وحشی جمع‌آوری‌شده از منطقه تبت بیشتر از خاورمیانه بود. فنگ و همکاران (۶)، حدود ۱۰۶ ژنوتیپ جو وحشی جمع‌آوری‌شده از تبت و چین را که شامل سه گونه جو بود، با نشانگرهای ریزماهواره بررسی کردند و نشان دادند که تنوع ژنتیکی بین گونه‌ای بیشتر از درون گونه‌ای بود.

مهم‌ترین عامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی تنش خشکی است. این عامل ۴۰ تا ۶۰ درصد اراضی کشاورزی در دنیا را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۳). به نقل از نقوی و همکاران (۲۲) تنش خشکی هنگامی افزایش می‌یابد که میزان تبخیر بالای برگ‌ها از ظرفیت و توانایی ریشه‌ها برای جذب آب از خاک تجاوز نموده و فراتر رود. گیاهان مکانیسم‌های مختلفی را برای مقاومت در برابر خشکی به‌کار

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از محصولات اصلی زراعی می‌باشد که از نظر سطح زیر کشت و اهمیت غذایی در میان غلات، بعد از گندم، ذرت و برنج رتبه چهارم را به خود اختصاص داده است (۴). جو در مقایسه با سایر گیاهان زراعی، دارای سازگاری اکولوژیکی متمایزی بوده و در شرایط متنوع آب و هوایی قابل کشت است (۳۹). مطالعه منشأ، تنوع ژنتیکی و روابط تکاملی در جو برای حفاظت موثر و استفاده بهینه از منابع ژنی ژرم‌پلاسِم مفید است (۳۵). پیش از شناسایی نشانگرهای مولکولی، اغلب محققین برای تعیین تنوع ژنتیکی از صفات مورفولوژیکی استفاده می‌کردند که به‌دلیل محدود بودن این نشانگرها و همچنین تأثیر گرفتن از عوامل محیطی، نشانگرهای مولکولی جایگزین نشانگرهای مورفولوژیک گردیدند (۱۸). امروزه نشانگرهای مولکولی به‌ویژه نشانگرهای مبتنی بر DNA توانسته‌اند اکثر مشکلات نشانگرهای مورفولوژیک و بیوشیمیایی را برطرف کرده و مکمل این نشانگرها باشند (۲۱). از میان نشانگرهای مولکولی می‌توان به AFLP، RFLP، RAPD، SSR و ... اشاره کرد که ریزماهواره‌ها به‌علت هم‌باز بودن، تکرارپذیری بالا، میزان چندشکلی بالا، مشخص

گام نشان داد که ۱۸ تا ۲۰ نشانگر ۴۰ تا ۵۸ درصد تغییرات این دو صفت را تبیین می‌کنند. برای این منظور در این پژوهش تنوع ژنتیکی ۵۵ لاین جو توسط نشانگرهای ریزماهوره بررسی شد. سپس برای شناسایی نشانگرهای مثبت صفات تعداد روز تا خوشه‌دهی، طول دوره پر شدن دانه، وزن هزار دانه، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک و عملکرد اندازه‌گیری شدند و تجزیه ارتباط بین صفات مرتبط با خشکی و نشانگرهای ریزماهوره انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه شامل ۵۵ لاین جو (شش ردیفه و دو ردیفه) بود. منشاء لاین‌های جو استفاده‌شده در این تحقیق در جدول ۱ ذکر شده است. این لاین‌ها از موسسه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه (آذربایجان شرقی) تهیه شدند. استخراج DNA به روش CTAB (۲۸) با اندکی تغییرات انجام گرفت و کیفیت و کمیت نمونه‌ها با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتر در ۲۶۰ نانومتر تعیین شد. برای تکثیر جایگاه‌های ریزماهوره از ۳۵ جفت آغازگر ریزماهوره جو استفاده شد. این آغازگرها از سایت <http://Wheat.pw.usda.gov/GG2/Barley> انتخاب شده بودند مبنای انتخاب آغازگرها پوشش ۷ کروموزوم جو بود. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۱۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر از مستر میکس PCR شرکت سیناژن، ۰/۵ میکرولیتر (با غلظت ۱۰ پیکو مول بر میکرو لیتر) از هر کدام از آغازگرهای پیشرو و پسرو، ۱ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۲۵ نانو گرم در میکرولیتر، ۳ میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای مناسب (۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۵۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و در نهایت یک چرخه گسترش نهایی به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. برای جداسازی محصولات تکثیری از ژل پلی‌آکریلامید واسرشته‌ساز ۴/۵ درصد در دستگاه الکتروفورز عمودی ساخت شرکت Bio-Rad استفاده شد و رنگ‌آمیزی ژل‌ها با استفاده از روش نیترات نقره صورت گرفت (شکل ۱). امتیازدهی الگوهای نواری به صورت صفر (عدم وجود نوار) و یک (وجود نوار) انجام شد. علاوه‌براین، تعداد آلل در هر جایگاه برآورد شد. برای تعیین قدرت تمایز نشانگر، شاخص میزان اطلاعات چندشکلی $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$ با رابطه $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$ (که در این رابطه p_i بیانگر فراوانی آلل i ام در یک مکان ریزماهوره و n بیانگر تعداد کل آلل‌ها می‌باشند) محاسبه گردید (۱). گروه‌بندی لاین‌ها، بر اساس تجزیه خوشه‌ای با الگوریتم Neighbour-Joining و ضریب فاصله Number of differences با استفاده از نرم‌افزار MEGA5 (۳۲) انجام شد.

می‌برند از جمله این روش‌ها گریز یا فرار از خشکی است. فرار از خشکی به توانایی یک گیاه برای رسیدن و کامل کردن دوره رشد خود قبل از اینکه تنش خشکی به‌عنوان یک عامل محدودکننده مهم بروز نماید، اطلاق می‌شود (۹). زراعت دیم وابسته به نزولات آسمانی است و ایران روی کمر بند خشکی دنیا واقع شده است و با گذر از فصل بهار به تابستان از میزان و پراکنش بارندگی‌ها به میزان قابل‌توجهی کاسته می‌شود و گیاهان زراعت دیم در اواخر فصل رشد، رسیدن و پر شدن دانه با خشکی مواجه می‌گردند. جو یکی از عمده محصولات کشت‌شده در مناطق دیم است که متوسط عملکرد آن پایین است بنابراین، انجام پژوهش‌هایی برای گزینش ارقام یا ژنوتیپ‌های دارای پتانسیل فرار از خشکی در جهت بالا بردن عملکرد جو دیم با توجه به سطح زیر کشت آن و گسترش روزافزون خشکی جهانی ضرورت دارد (۲). همچنین به نقل از حیدری رودبالی و همکاران (۱۱) افزایش عملکرد دانه مهمترین هدف به‌نژادگران در برنامه‌های اصلاحی است.

بدین منظور، علاوه‌بر استفاده از روش‌های جدید به‌زراعی در دیم‌کاری، مسأله به‌نژادی و یافتن ارقام متحمل به خشکی برای دیم‌زارها مورد توجه است. استفاده از نشانگرها سبب تسهیل در شناسایی ارقام مقاوم به خشکی می‌گردد و تجزیه ارتباط و استفاده از نشانگرهای مثبت، روند شناسایی مکان‌های ژنی صفات کمی را آسان‌تر می‌سازد. روش تجزیه ارتباط^۲ به ارتباط معنی‌دار بین یک نشانگر مولکولی و فنوتیپ یک صفت اطلاق می‌شود که امکان شناسایی اولیه و سریع ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی را میسر می‌سازد. در این روش، هدف شناسایی نشانگرهایی با توارث ساده و پیوسته به عوامل ژنتیکی کنترل‌کننده صفات کمی و ایجاد یک ارتباط آماری بین آلل‌های نشانگر و QTL است (۱۴). بر اساس مطالعه ایواندیک و همکاران (۱۳) نشانگرهای مرتبط با زمان گلدهی تحت رژیم‌های مختلف رشدی در جو با استفاده از ۳۳ نشانگر SSR و روش تجزیه ارتباط، شناسایی گردید. بررسی رابطه بین صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای مولکولی دارای کاربردهای متعددی از جمله: شناسایی آلل‌های صفات مطلوب در مجموعه ژرم‌پلاسما، کمک به مکان‌یابی دقیق QTL‌ها و غیره می‌باشند (۷). مطالعات فراوانی در ارتباط با بررسی تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیک در گیاهان انجام شده است مانند: مقاومت به خشکی در پنبه (۳۰)، حساسیت به فتوپریود و پلاستیسیته در آراییدوپسیس (۳۳)، عملکرد و رشد برنج (۱۲) و عملکرد جو (۳۴).

در مطالعه‌ای که توسط حمزا و همکاران (۱۰) روی ۲۶ ژنوتیپ جو انجام شد، ۱۷ نشانگر ریزماهوره با تعدادی از صفات مورفولوژیک مورد بررسی ارتباط معنی‌داری نشان دادند و همبستگی حاصل از داده‌های مولکولی و صفات مورفولوژیکی نسبتاً پایین اما معنی‌دار بود. کراک‌من و همکاران (۱۵) در پژوهشی با استفاده از ۲۳۶ نشانگر AFLP به مطالعه ۱۴۶ رقم جو بهار دو ردیفه پرداختند و ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و صفات عملکرد و پایداری عملکرد را تعیین کردند. نتایج حاصل از بررسی رگرسیون چندگانه گام به

کامل زرد شوند)، وزن هزار دانه و کیلوگرم عملکرد در کرت (کیلوگرم عملکرد در کرت بعد از برداشت کل محصول کرت برآورد گردید) اندازه‌گیری شد (۸).

برای شناسایی نواحی ژنومی دخیل در کنترل این صفات، تجزیه ارتباط بر اساس نشانگرهای ریزماهواره و ارزش‌های فنوتیپی این صفات با در نظر گرفتن مکان‌های نشانگری به‌عنوان متغیرهای مستقل و صفات ذکرشده به‌عنوان متغیرهای وابسته با استفاده از نرم‌افزار SPSS₁₉ انجام شد. برای کاهش خطای نوع اول، در ابتدا تجزیه همبستگی پیرسون انجام گرفت. نشانگرهای مولکولی که در سطح احتمال یک و پنج درصد دارای همبستگی معنی‌دار با صفات ذکرشده بودند، در تجزیه رگرسیون چندگانه گام به گام وارد شدند و برای این تجزیه سطح احتمال پنج درصد برای ورود متغیرها به مدل و سطح احتمال یک درصد برای خروج از مدل منظور گردید (۱۶).

به‌منظور ارزیابی صفات فنولوژیک و عملکرد مرتبط با فرار از خشکی در این لاین‌ها، ۵۵ لاین در کرت‌هایی به ابعاد نیم در یک متر (اندازه کرت ۰/۵ متر مربع) در دو تکرار به‌صورت دیم در شرایط دیم ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه در مزرعه (سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹) کشت شدند. تاریخ کشت نمونه‌های جو دی ماه و مبنای شمارش تعداد روز، روییدن ۵۰ درصد دانه‌ها از سطح خاک بود. صفات تعداد روز تا خوشه‌دهی (تعداد روز از روییدن ۵۰ درصد دانه‌ها از سطح خاک تا ۵۰ درصد خوشه‌دهی گیاهان هر لاین)، طول دوره پرشدن دانه (تفاضل تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک از تعداد روز تا گرده‌افشانی (تعداد روز از روییدن ۵۰ درصد دانه‌ها از سطح خاک تا زمانی که ۵۰ درصد پرچم‌ها در بوته‌های هر لاین از سنبله خارج شوند)، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک (تعداد روز از روییدن ۵۰ درصد دانه‌ها از سطح خاک تا زمانی که رنگ پدانکل در ۵۰ درصد گیاهان هر لاین به‌طور

جدول ۱- شماره دسترسی در بانک ژن و منشأ لاین‌های جو

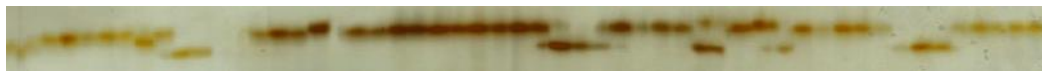
Table 1. The accession number in gene bank and origin of barley lines

شماره	دسترسی	منشأ	شماره	دسترسی	منشأ	شماره	دسترسی	منشأ
11	71557	Egypt	35	72322	China	53	72488	Iran
12	71576	Egypt	36	72368	China	54	72494	Iran
13	71576	Egypt	37	72368	China	55	72498	Iran
14	71576	Egypt	38	72368	China	56	72498	Iran
15	71591	Egypt	39	72368	China	57	72500	Iran
16	71591	Egypt	40	72372	China	58	72520	Iran
17	71608	Egypt	41	72372	China	59	72522	Iran
18	71614	Egypt	42	72397	China	60	72524	Iran
19	71614	Egypt	43	72397	China	61	72524	Iran
20	71630	Egypt	44	72406	China	62	72524	Iran
21	71630	Egypt	45	72406	China	63	72545	Iran
22	71657	Egypt	46	72439	China	64	72546	Iran
28	72113	China	47	72439	China	68	72559	Iran
29	72295	China	48	72439	China	70	72562	Iran
30	72295	China	5	71441	Iran	66	72557	Azerbaijan
31	72295	China	49	72466	Iran	67	72557	Azerbaijan
32	72322	China	50	72472	Iran	69	72560	Azerbaijan
33	72322	China	51	72480	Iran			
34	72322	China	52	72480	Iran			

متغیر بود و کمترین و بیشترین میزان به‌ترتیب به نشانگرهای GBM1303 و GBM1359 تعلق داشت (جدول ۲). در پژوهشی راتودا و همکاران (۲۷) ۱۳ رقم محلی زمستانه جو ترکیه را بررسی کردند. مطالعه مولکولی نشان داد که در مجموع ۴۳ نوار توسط ۱۵ جفت آغازگر SSR تولید شد که به‌طور متوسط ۲/۶ نوار به ازای هر جفت آغازگر قابل تشخیص بود.

نتایج و بحث

از تعداد ۳۵ جفت آغازگر مورد استفاده، ۲۵ جفت آغازگر الگوی نواری چندشکل و قابل امتیازدهی تولید کردند، در مجموع ۱۸۶ آلل چندشکل در جمعیت مورد مطالعه حاصل شد. به‌طوریکه، تعداد آلل برای هر آغازگر از ۲ تا ۱۴ و با میانگین تعداد آلل ۷/۴۴ برای هر آغازگر مشاهده شد. میزان اطلاعات چندشکلی بین ۰/۱۸ تا ۰/۴۵ با میانگین ۰/۳۲



شکل ۱- الگوی نواری نشانگر ریزماهواره در لاین‌های جو
Figure 1. The banding pattern of microsatellite marker in barley lines

جدول ۲- نام، تعداد آل و میزان اطلاعات چندشکلی آغازگرهای SSR (http:// wheat.pw.usda.gov/GG2/Barley) در لاین‌های جو
Table 2. Name, allele number and polymorphic information content of SSR primers (http:// wheat.pw.usda.gov/GG2/Barley)
in barley lines

نشانگر	تعداد آل	میزان اطلاعات چندشکلی	نشانگر	تعداد آل	میزان اطلاعات چندشکلی
HVLTTPPB	۵	۰/۳۷	GBM1270	۳	۰/۳۸
Bmag0113b	۷	۰/۳۰	EBmac0560	۴	۰/۳۷
HVM70	۴	۰/۳۷	Bmac0047	۹	۰/۳۰
HVML0H1	۶	۰/۳۱	Bmgttttt0001	۷	۰/۴۱
GBM1221	۹	۰/۳۶	Bmac0218	۹	۰/۲۹
Bmac0273d	۱۳	۰/۲۸	GBM1464	۱۴	۰/۳۳
GBM1482	۶	۰/۳۸	Bmac0144	۱۱	۰/۳۳
HVM30	۴	۰/۲۹	Bmac0273e	۱۴	۰/۳۲
Bmag0121	۳	۰/۲۶	Bmag0571	۱۱	۰/۳۸
scsrs15334	۵	۰/۳۵	GBM1359	۲	۰/۴۵
Bmag0113a	۱۰	۰/۲۸	GBM1303	۱۰	۰/۱۸
HVDHN09	۴	۰/۳۶	Bmac0064	۴	۰/۳۱
scsrs09398	۱۲	۰/۲۸			
میانگین کل				۷/۴۴	۰/۳۲

واویلو، مبداء جوی ریشک بلند و دانه پوشیده، کشور اتیوپی و شمال آفریقا (محدوده کشور مصر و...) و مبداء نوع بدون ریشک، ریشک کوتاه، لخت و زائده‌دار، آسیای جنوب شرقی، به‌ویژه چین، ژاپن و تبت است. همچنین جوهای زراعی به‌خوبی با یکدیگر آمیزش می‌یابند (۲۶). بنابراین، امکان تفکیک کامل این لاین‌ها بر اساس منشاء جغرافیایی و دو ردیفه و شش ردیفه بودن نیاز به استفاده از تعداد زیادی جفت آغازگر ریزماهواره دارد. این یافته‌ها در تفکیک غیرقابل قبول جو دو دیفه و شش ردیفه با پژوهش فنگ و همکاران (۶) مطابقت دارد، آن‌ها از ۱۰۶ جو وحشی به‌دست‌آمده از تبت و چین را که شامل ۵۰ جو (HS) دو ردیفه، ۲۹ جو (HA) شش ردیفه و ۲۷ جو (HL) شش ردیفه بود را به‌وسیله ۳۰ نشانگر ریزماهواره مورد مطالعه قرار دادند. تجزیه خوشه‌ای، لاین‌های مورد بررسی را به دو گروه تقسیم کرد، لاین‌های دو ردیفه (HS) و شش ردیفه (HA) هر کدام در دو گروه مجزا قرار گرفتند و به‌خوبی از یکدیگر تفکیک شدند اما بخشی از لاین‌های شش ردیفه (HL) در گروه یک و برخی در گروه دو جای گرفتند و موفقیت آن‌ها در جداسازی لاین‌های دو و شش ردیفه به‌صورت نسبی بود. همچنین سلوکی و همکاران (۳۱) عدم‌مطابقت بین گروه‌بندی بر اساس داده‌های مولکولی و منشاء جغرافیایی را در نتیجه زمینه ژنتیکی جمعیت‌های استفاده‌شده و دارا بودن ویژگی‌های خاص در توالی ژنوم می‌دانند و علت این امر را به‌عواملی همچون جابه‌جایی ژرم‌پلاسم و پراکنش بسیار وسیع یک گیاه در محدوده جغرافیایی مورد مطالعه نسبت دادند.

نمودار پراکنش لاین‌ها بر اساس دو مولفه اصلی اول (شکل ۳) نشان می‌دهد که تا حد مطلوبی لاین‌های ایران و چین از یکدیگر تفکیک شدند و هرچند که برخی لاین‌های مصری در گروه منحصر به فردی قرار گرفتند ولی برخی نیز در ترکیب با لاین‌های ایرانی و چینی قرار گرفته‌اند. در کل، نمودار پراکنش لاین‌ها بر اساس دو مولفه هماهنگ اصلی و تجزیه درختی نشان داد که این دو تجزیه با هم مطابقت دارند.

ماتوس و هایس (۱۷) از نشانگرهای ریزماهواره برای برآورد تنوع ژنتیکی ۳ گروه ژرم‌پلاسمی جو، شامل توده‌های اجدادی جو، والدین جمعیت‌های در حال تفرق مورد استفاده برای مکان‌یابی ژنی و ارقام والدینی برگزیده برنامه‌های اصلاحی، استفاده کردند. در این تحقیق از ۴۲ جفت آغازگر ریزماهواره ۶۳۷ آل در ۱۴۷ ژنوتیپ تولید شد. میانگین تعداد آل به ازای هر نشانگر در اجداد زراعی جو ۱۰/۳، در والدین جمعیت‌های در حال تفرق ۸/۳ و در ارقام والدینی برگزیده ۵/۸ بود و میزان محتوای اطلاعات چندشکلی بین ۰/۰۸ تا ۰/۹۴ متغیر بود.

ماهیت مواد ژنتیکی، تعداد ژنوتیپ‌ها و آغازگرهای مورد استفاده می‌توانند از جمله دلایل وجود تفاوت در تعداد آل‌های تکثیرشده توسط آغازگرهای SSR در مطالعات مختلف باشند. نشانگرهایی که نوارهای چندشکل بیشتری تولید می‌کنند، نسبت به نشانگرهایی که نوارهای چندشکل کمتری تولید می‌کنند، در مطالعات تنوع ژنتیکی و تمایز افراد کارایی بالایی دارند (۲۵).

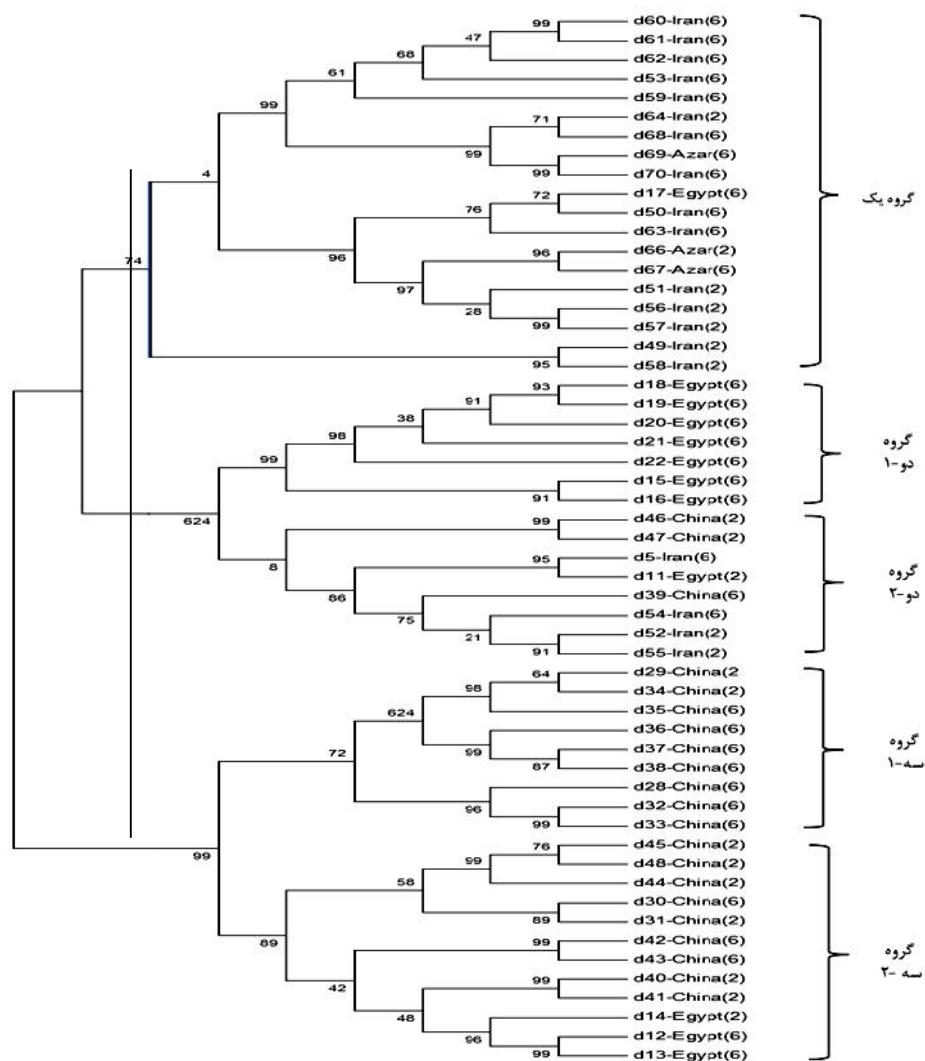
در تجزیه خوشه‌ای لاین‌ها به سه گروه تقسیم شدند که گروه ۲ و ۳ شامل دو زیرگروه بود (شکل ۲). گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای در تجزیه واریانس مولکولی در سطح احتمال یک درصد با هم اختلاف معنی‌دار داشتند. گروه یک شامل لاین‌های ایران و آذربایجان بود (آذربایجان در گذشته جزء کشور ایران بوده است) و تنها یک ژنوتیپ از کشور مصر در این گروه قرار گرفت. زیرگروه ۱ گروه دو، شامل لاین‌های شش ردیفه کشور مصر بود. در زیرگروه ۲ گروه دو، لاین‌هایی با منشاء جغرافیایی ایران، مصر و چین قرار گرفتند. زیرگروه ۱ گروه سه شامل لاین‌های چینی و اکثر لاین‌های قرارگرفته در زیرگروه ۲ گروه سه متعلق به کشور چین بودند و سه لاین مصری نیز در این گروه قرار گرفتند. لاین‌ها تا حد مطلوبی بر اساس منشاء جغرافیایی از یکدیگر تفکیک شدند. ولی جوهای دو ردیفه و شش ردیفه تفکیک قابل‌قبولی نشان ندادند. منشاء واقعی جو هنوز ناشناخته است. اما بسیاری از محققین، خاستگاه این گیاه را کوه‌های زاگرس در غرب ایران، آناتولی جنوبی و فلسطین می‌دانند. بر پایه نظریه

تجزیه رگرسیون، رابطه معنی‌داری بین برخی از نشانگرهای ریزماهواره و ۵ صفت اندازه‌گیری‌شده نشان داد. در کل ۲۴ نشانگر مثبت از مجموع ۱۸۶ نشانگر ریزماهواره ارتباط معنی‌داری با تغییرات ۵ صفت نشان دادند.

مدل‌های برازش‌شده برای پنج صفت وزن هزار دانه (TKW)^۱، تعداد روز تا خوشه‌دهی (DHE)^۲، طول دوره پر شدن دانه (GF)^۳، کیلو گرم عملکرد در کرت (Yield) و تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک (DMA)^۴ به‌ترتیب مقادیر ۶۸/۵، ۶۴/۴، ۵۴/۳ و ۳۴/۱ درصد از تغییرات صفات را تبیین کردند. بیشترین تغییرات مربوط به صفت وزن هزار دانه (۶۹/۳ درصد) بود که به‌وسیله مکان‌های HVMLOH1.4، GBM1482.4، Bmag0113a.3، Bmac0047.8 و GBM1303.1 تبیین شد. در حالی که، سه مکان Bmag0571.1، Bmag0571.2 و Bmag0571.9 فقط ۳۴/۱ درصد از تغییرات مربوط به صفت تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک را تبیین کردند. بیشترین تعداد نشانگرهای مثبت (۶ نشانگر) برای صفت DHE شناسایی شد. مکان GBM1482.4 با هر دو صفت DHE و TKW، Bmag0571.6 با هر دو صفت DHE و GF، مکان‌های HVMLOH1.4 و Bmag0113a.3 نیز با هر دو صفت TKW و Yield صفت مرتبط بودند. وجود نشانگرهای مشترک برای برخی صفات، احتمالاً به‌دلیل پیوستگی مکان‌های کروموزومی کنترل‌کننده این صفات و یا پلیوتروپی می‌باشد. به نقل از فاخری و مهرآوران (۳) چندین QTL هم‌مکان برای صفات متفاوت گزارش شده است و هم‌مکانی QTLها به‌واسطه پیوستگی دو ژن یا اثر پلیوتروپی یک ژن است که در حالت دوم همبستگی بین صفات هرگز شکسته نمی‌شود. پلیوتروپی اجزای فرعی صفات را کنترل می‌کند و وقتی یک صفت انتخاب می‌شود، موجب کاهش یا افزایش همزمان صفات همبسته می‌گردد و اثرات آلی QTLهای هم‌مکان توجیه‌کننده همبستگی‌های مثبت و منفی موجود بین صفات است.

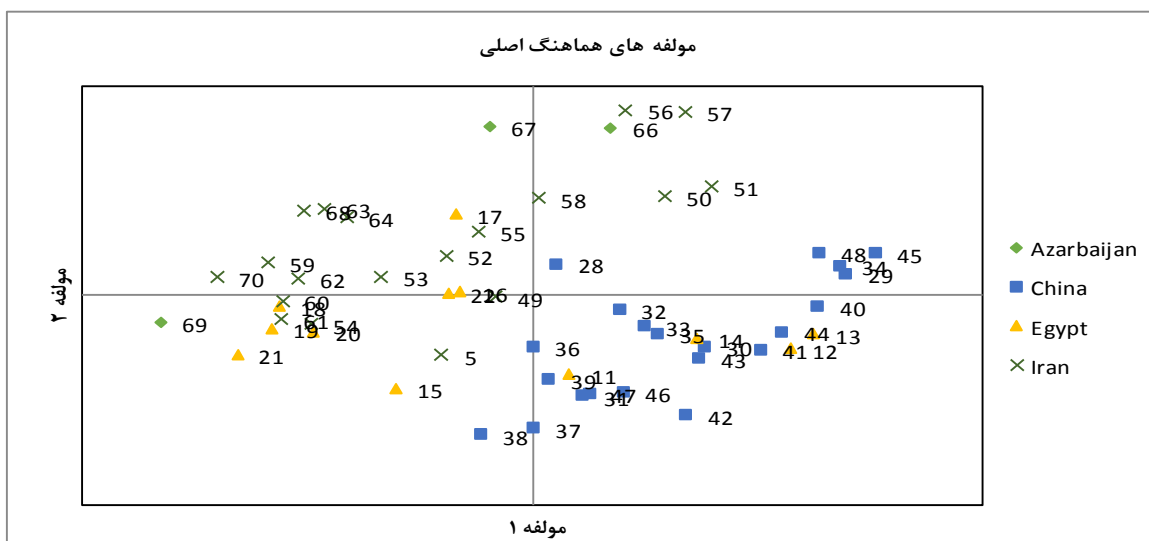
در تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی، مولفه اول تا سوم به‌ترتیب ۲۵/۰۵، ۱۹/۲۷ و ۱۶/۹۵ درصد و در مجموع ۶۱/۲۷ درصد از تغییرات مولکولی کل بین لاین‌ها را تبیین می‌کند. ملچینگر و همکاران (۱۹) نقش سه روش تجزیه مختصات اصلی، تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی و تجزیه خوشه‌ای را در ارزیابی تنوع ژنتیکی ذرت و جو مقایسه کردند و اظهار نمودند که تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی و مختصات اصلی وقتی که سه مولفه اول بیشتر از ۲۵ درصد از تغییرات کل را تبیین کنند روابط موجود بین گروه‌ها و ژنوتیپ‌ها را صحیح توصیف می‌کنند. همچنین مسمر و همکاران (۲۰) اظهار داشتند برای استخراج بیشترین اطلاعات از داده‌های نشانگر مولکولی، تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی و مختصات اصلی می‌تواند در ترکیب با تجزیه خوشه‌ای به‌کار رود، به‌یژه اگر سه مولفه اول بیشتر از ۲۵ درصد از تغییرات کل را توجیه کنند.

به‌منظور شناسایی نواحی ژنومی دخیل در کنترل پنج صفت اندازه‌گیری‌شده مرتبط با فرار از خشکی و تعیین نشانگرهای مثبت، تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و ارزش‌های فنوتیپی اندازه‌گیری‌شده انجام شد (جدول ۳). با توجه به اطلاعات هواشناسی ایستگاه تحقیقاتی دیم مراغه، در طی سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ میزان بارندگی در ایستگاه مراغه ۳۵۱ میلی‌متر بوده که برابر میانگین بلندمدت بوده ولی نسبت به سال زراعی قبل ۲۹ درصد کاهش نشان داد. پراکنش بارندگی در پاییز ۱۷، در زمستان ۱۴۲ و در بهار ۱۹۳ میلیمتر بوده است. به‌عبارت دیگر، ۵ درصد بارش‌ها در پاییز، ۴۰ درصد در زمستان و ۵۵ درصد در بهار به‌وقوع پیوسته‌اند. متأسفانه به‌دلیل نبود بارندگی در خرداد و تیر ماه و افزایش دما، گیاهان با تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه مواجه شدند. در یک جمع‌بندی از وضعیت آب و هوایی حاکم بر سال زراعی می‌توان اظهار نمود که بر اساس میزان کل و پراکنش بارندگی شرایط دیم در منطقه حاکم بوده است و مواد گیاهی تحت بررسی در این سال با گرما و خشکی آخر فصل زراعی مواجه شدند.



شکل ۲- نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای UPGMA با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره چندشکل (۲): جو دو ردیفه و (۶): جو شش ردیفه

Figure 2. Dendrogram derived from UPGMA cluster analysis using polymorphic microsatellite markers. (2): two-rowed barley and (6): six-rowed barley.



شکل ۳- پراکنش لاین‌های جو بر اساس دو مولفه اول حاصل از تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی با استفاده از داده‌های ریزماهواره
Figure 3. Transmittance of barely lines based on the first two axes derived from principal coordinate analysis using
microsatellite data

همچنین، ارزیابی فنوتیپی این لاین‌ها از نظر صفات مختلف به‌ویژه صفاتی که در شرایط دیم مهم هستند و شناسایی نشانگرهای پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده آنها از طریق روش‌های گزینش به‌کمک نشانگر، در پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی حائز اهمیت هستند. شناسایی ساختارهای ژنتیکی متنوع این لاین‌ها، استفاده از لاین‌هایی با بیشترین تفاوت ژنتیکی به‌عنوان والدین جمعیت‌های در حال تفرق برای تولید تنوع جدید و نیز مکان‌یابی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی امکان‌پذیر می‌سازد.

در صورت تایید مجدد این نشانگرهای مثبت در آزمایشات تکمیلی، امکان استفاده از این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی جو (در شرایط دیم) برای گزینش غیرمستقیم به‌منظور بهبود و اصلاح صفات فرار از خشکی مقدور خواهد بود.

ضرایب رگرسیون دارای واحد می‌باشند، بنابراین نمی‌توان این ضرایب را با هم مقایسه کرد. برای از بین بردن اثر مقیاس داده‌ها استاندارد می‌شوند و ضریب رگرسیون استاندارد شده فاقد واحد و قابل مقایسه هستند. همچنین، به‌دلیل اینکه همه واریانس‌ها سهم یکنواختی در مدل دارند ضریب رگرسیون استاندارد شده دو معادله نیز قابل مقایسه هستند (۵).

جدول ۳- نام، مکان کروموزومی و نتایج آنالیز رگرسیون نشانگرهای مثبت برای صفات مرتبط با فرار از خشکی در لاین‌های جو
Table 3. Name, chromosomal location and the results of regression analysis of informative markers for traits related to drought escape in barley lines

ضریب رگرسیون استاندارد شده	ضریب رگرسیون	مکان کروموزومی	نشانگر مثبت	ثابت رگرسیون	صفت
-۰/۴۲۱	$۲/۶۰۰^{***} \pm ۰/۵۳۸$	4H	GBM1482.4	$۱۴۸/۱۱۰^{***} \pm ۰/۴۱۶$	DHE
-۰/۳۴۹	$۲/۴۵۶^{***} \pm ۰/۵۹۹$	3H	Bmag0113a.4	-	DHE
-۰/۳۹۳	$۴/۳۶۵^{***} \pm ۰/۹۷۸$	3H	Bmag0113a.5	-	DHE
-۰/۳۳۵	$۱/۶۱۲^{***} \pm ۰/۵۸۴$	7H	Bmag0571.4	-	DHE
-۰/۱۹۷	$-۱/۲۴۹^{**} \pm ۰/۵۵۷$	7H	Bmag0571.6	-	DHE
-۰/۲۱۶	$۱/۳۳۲^{**} \pm ۰/۵۱۱$	7H	GBM1359.2	-	DHE
r^2 تصحیح شده $۰/۶۸۵$					
-۰/۳۳۲	$-۱/۸۷۳^{**} \pm ۰/۶۹۶$	7H	Bmag0571.1	$۱۷۷/۰۵۱^{***} \pm ۰/۴۴۲$	DMA
-۰/۲۴۷	$-۱/۵۲۷^{**} \pm ۰/۷۲۵$	7H	Bmag0571.2	-	DMA
-۰/۲۷۴	$-۱/۹۹۲^{**} \pm ۰/۸۴۲$	7H	Bmag0571.9	-	DMA
r^2 تصحیح شده $۰/۳۴۱$					
-۰/۳۶۱	$۴/۵۶۳^{***} \pm ۱/۱۶۸$	4H	GBM1221.1	$۲۶/۱۶۶^{***} \pm ۰/۴۶۴$	Grain Filling
-۰/۳۴۱	$-۲/۳۰۳^{**} \pm ۰/۶۷۲$	6H	Bmac0047.7	-	Grain Filling
-۰/۳۳۸	$-۲/۴۲۵^{**} \pm ۰/۷۱۲$	7H	Bmac0273e.6	-	Grain Filling
-۰/۳۰۴	$-۷/۴۳۷^{**} \pm ۲/۰۹$	7H	Bmac0273e.7	-	Grain Filling
-۰/۱۹۵	$۱/۴۰۰^{**} \pm ۰/۶۱۳$	7H	Bmag0571.6	-	Grain Filling
r^2 تصحیح شده $۰/۶۴۴$					
-۰/۲۲۳	$-۴/۲۶۵^{**} \pm ۱/۵۵۱$	4H	HVMLOH1.4	$۵۰/۴۶۴^{***} \pm ۱/۰۲۰$	TKW
-۰/۴۲۸	$-۷/۳۰۶^{***} \pm ۱/۳۱۸$	4H	GBM1482.4	-	TKW
-۰/۳۹۶	$۶/۹۸۶^{***} \pm ۱/۸۶۴$	5H	Bmag0113a.3	-	TKW
-۰/۴۳۰	$-۸/۰۶۱^{***} \pm ۱/۵۱۱$	6H	Bmac0047.8	-	TKW
-۰/۳۴۲	$۱۰/۷۶۶^{**} \pm ۳/۵۰۵$	7H	GBM1303.1	-	TKW
r^2 تصحیح شده $۰/۶۹۳$					
-۰/۴۳۴	$-۰/۰۸۴^{***} \pm ۰/۰۱۸$	4H	HVMLOH1.4	$-۰/۲۳۳^{**} \pm ۰/۱۲$	Yield
-۰/۳۱۵	$۰/۰۷۶^{**} \pm ۰/۰۲۳$	5H	Bmag0113a.3	-	Yield
-۰/۳۷۵	$-۰/۰۷۰^{***} \pm ۰/۰۱۸$	5H	Bmag0113a.4	-	Yield
-۰/۲۴۳	$-۰/۰۷۳^{**} \pm ۰/۰۳۷$	7H	Bmag0571.3	-	Yield
-۰/۳۷۹	$۰/۰۹۱^{***} \pm ۰/۰۲۳$	7H	GBM1303.4	-	Yield
r^2 تصحیح شده $۰/۵۴۳$					

** معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱ و *** معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۰۱، DHE: تعداد روز تا خوشه‌دهی، DMA: تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، GF: طول دوره پر شدن دانه، TKW: وزن هزار دانه و Y: عملکرد.

منابع

- Anderson, J.A., G.A. Churchill, J.E. Sutcliffe, S.D. Tanksley and M.E. Sorrells. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, 36: 181-186.
- Cattivelli, L., F. Rizza, F.W. Badeck, E. Mazzucotelli, A.M. Mastrangelo, E. Francia, C. Mar'è, A. Tondelli and A.M. Stanca. 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Research*, 115: 1-14.
- Fakheri, B.A. and L. Mehravaran. 2013. Locating QTLs controlling agronomic traits of "Steptoe×Morex" derived double haploid population of barley under drought stress conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 44: 47-57 (In Persian).
- FAO. 2010. FAO statistical database. <http://faostat.fao.org/faostat/collections?subset=agriculture>.
- Farshadfar, E. 2001. Advanced principles and procedures of statistics (Regression analysis). Kermanshah University, 757 pp.
- Feng, Z.Y., X.J. Liu, Y.Z. Zhang and H.Q. Ling. 2006. Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using SSR markers. *Acta Genetica Sinica*, 33: 917-928.
- Gebhardt, C., A. Ballvora, B. Walkemeier, P. Oberhagemann and K. Schuler. 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.
- Golabadi, M., A. Arzani and S.A.M. Mirmohammadi Maibody. 2012. Mapping of loci controlling phenological traits in durum wheat under drought stress and non-stress conditions using SSR markers. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 13: 712-729 (In Persian).
- Gupta, P.C. and J.C. O'Tolle. 1986. Upland Rice, Global perspective. IRRI, In: Baker, F.W.G. (ed.) *Drought Resistance In cereals*. CABI. 108.

10. Hamza, S., W. Ben Hamida, A. Rebaï and M. Harrabi. 2004. SSR-based genetic diversity assessment among Tunisian winter barley and relationship with morphological traits. *Biological Science. Euphytica*, 135: 107-118.
11. Heydari Roodballi, M., R. Abdolshahi, A. Baghizadeh and M.G. Ghaderi. 2016. Genetic analysis of yield and yield related traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress condition. *Journal of Crop Breeding*, 8: 1-6 (In Persian).
12. Hittalmani, S., N. Huang, B. Courtois, R. Venuprasad and H.E. Shashidhar. 2003. Identification of QTL for growth- and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 679-690.
13. Ivandic, V., C.A. Hackett, E. Nevo, R. Keith, W.T.B. Thomas and B.P. Forster. 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.
14. Jannink, J.L. and B. Walsh. 2002. Association mapping in plant populations. In M.S. Kang (ed.) *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*, 59-68.
15. Kraakman, A.T.W., R.E. Niks, P.M.M.M. Van den berg, P. Stam and F.A. Van Eeuwijk. 2004. Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*, 168: 435-446.
16. Kraakman, A.T.W., F. Artinez, B. Mussiraliev, F.A. Van Eeuwijk and R.E. Niks. 2006. Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance and other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. *Molecular Breeding*, 17: 41-58.
17. Matus, I. and P. Hayes. 2002. Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome*, 45: 1095-1106.
18. Macharo, M., D.R. Labonte, J.H. Oard, S.J. Kays and W.J. McLaurin. 2004. Linking quantitative traits with AFLP markers in sweet potatoes using discriminate analysis, *Acta Horticulturae*, 637: 285-293.
19. Melchinger, A.E. 1993. Use of RFLP markers for analysis of genetic relationship among breeding materials and prediction of hybrid performance. In: D.R. Buxton, R. Shibles, R.A. Forsberg, B.L. Blad, K.H. Asay, G.M. Paulsen, and R.F. Wilson. [eds.], *International Crop Science I. International Crop Science Congress*, Ames, Iowa, USA.
20. Messmer, M.M., A.E. Melchinger, J. Boppenmaier, R.G. Herrmann, and E. Brunklaus-Jung. 1992. RFLP analyses of early-maturing European maize germplasm: I. Genetic diversity among flint and dent inbreds. *Theoretical and Applied Genetics*, 83: 1003-1012.
21. Naghavi, M.R., M. Mardi, H.A. Ramshini and B. Fazelinassab. 2004. Comparative analyses of the genetic diversity among bread wheat genotypes based on RAPD and SSR markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 2: 195-202.
22. Naghavi, M.R., M. Moghaddam, M. Toorchi and M.R. Shakiba. 2016. Evaluation of spring wheat cultivars for physiological, morphological and agronomic traits under drought stress. *Journal of Crop Breeding*, 8: 64-77 (In Persian).
23. Okuyama, L.A., L.C. Ferizzi and J.F.B. Neto. 2004. Correlation and path analysis of yield and its components and plant traits in wheat. *Ciencia Rural*, 34: 1701-1708.
24. Ovesna, J., K. Polakova and L. Leisova. 2002. DNA analysis and their applications in plant breeding. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 38: 29-40.
25. Pradhan, A., G. Yan and J.A. Plummer. 2004. Development of DNA fingerprinting keys for the identification of radish cultivars. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 25: 95-102.
26. Poehlman, J.M. 1959. *Breeding field crops*. Holt, Rinehart and Winston, Inc. New York.
27. Raoudha, A., C.M. Hatem, B.N. Mberek, R. Chaabane, B.K. Leila and B.H. Jeannette. 2007. Simple sequence repeats markers and physiological characterization of some local Tunisian barley accessions. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 6: 19-29.
28. Saghai Maroof, M.A., R. Biyashev, G.P. Yang, Q. Zhang and R.W. Allard. 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India*, 91: 5466-5470.
29. Samarah, N.H. 2005. Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agronomy for Sustainable Development*, 25: 145-149.
30. Saranga, Y., M. Menz, C.X. Jiang, R.J. Wright and D. Yakir. 2001. Genomic dissection of genotype environment interactions conferring adaptation of cotton to arid conditions. *Genome Research*, 11: 1988-1995.
31. Solouki, M., H. Mehdikhani, H. Zeinali and A.A. Emamjomeh. 2008. Study of genetic diversity in Chamomile (*Matricaria chamomilla*) based on morphological traits and molecular markers. *Scientia Horticulturae*, 117: 281-287.
32. Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei and S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
33. Ungerer, M.C., S.S. Halldorsdottir, M.D. Purugganan and T.F.C. Mackay. 2003. Genotype-environment interactions at quantitative trait loci affecting inflorescence development in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 165: 353-365.
34. Voltas, J., I. Romagosa, S.E. Ullrich and F.A. Van Eeuwijk. 2001. Identification of adaptive patterns in the 'Steptoe. Morex' barley mapping population integrating genetic, phenotypic and environmental information. Presented at the 7th Quantitative Trait Locus Mapping and Marker-Assisted Selection Workshop, Valencia, Spain.
35. Wang, A., Z. Yu and Y. Ding. 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.

Assessment of Genetic Diversity and Association Analysis for Phonological Traits Related to Drought Escape in Barley Lines using Microsatellite Markers

Vahideh Gougerdchi¹, Sara Dezhsetan², Mahdi Izadi Dogonchi³, Mohammad Ali Ebrahimi⁴, Ali Asghari⁵ and Behzad Sadeghzadeh⁶

1- Graduated M.Sc. Student, Payame Noor University, Karaj, Alborz

2- Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII) (Tabriz); Assistant Professor, University of Mohaghegh Ardabili, (Corresponding author: sdezhsetan@uma.ac.ir)

3 and 5- Graduated M.Sc. Student and Associate Professor, University of Mohaghegh Ardabili

4- Associate Professor, Payame Noor University, Tehran

6- Associate Professor, Dryland Agricultural Research Institute (DARI), Maragheh

Received: February 17, 2015

Accepted: August 2, 2015

Abstract

Assessment of genetic diversity is important step for exploitation from plant material in breeding programs. In this study, genetic diversity of 55 barley lines evaluated using SSR markers and also microsatellite markers were used to identify informative markers associated with phonological and yield traits related to drought escape including days to heading, grain filling period, days to physiological maturity, thousand kernel weight and grain yield. These traits were evaluated in rainfed conditions. In order to, DNA was extracted from young barley leaves and the PCR products by using 35 pair SSR primers were loaded on 4.5% denatured polyacrylamide gel that 25 pair primers produced clear and polymorphic banding pattern. In general, 186 polymorphic bands detected. The number of observed polymorphic bands varied from 2 to 14, with an average of 7.44 bands per pair primers. Polymorphic information content (PIC) for primers ranged from 0.18 to 0.45, with an average of 0.32. Studied barley lines divided to 3 groups by cluster analysis. Lines were relatively favorable separated according to geographical origin which presents the efficiency of microsatellite markers for the detection of genetic differences and similarity. Also, 24 Informative markers identified in association analysis. Detection of informative markers can be used in mapping of quantitative trait loci for phonological and yield traits related to drought escape and can facilitate the identification of drought-escaping barley genotypes and leads to saving time, expense and labor.

Keywords: Association analysis, Barley, Genetic diversity, Microsatellite markers and Phonological traits related to drought escape