دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بومی جو وحشی *H. Spontaneum* با استفاده از نشانگر مولکولی EST-SSR

هومن شیروانی[۱]، علی اشرف مهرابی[۲]، محسن فرشادفر[۳]، هوشمند صفری[۴]، علی آرمینیان[۵] و فواد فاتحی[۳]

۱- دکتری اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایران
۲- دانشیار بخش زیست فناوری سازمان تحقیقات جنگلها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، (نویسنده مسوول: a.mehrabi@rifr-ac.ir)
۳- دانشیار گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۴-استادیار بخش تحقیقات جنگلها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران
۵- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۱۲
صفحه: ۳۳ تا ۴۵

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی مرتبط با خزانه ژنی اولیه جو برای بهره‌برداری در برنامه‌های اصلاحی بسیار حائز اهمیت است. جو زراعی (*H. vulgar*) و جد زراعی آن (*H. spontaneum*) سیستم مدل عالی و اقتصادی برای بررسی، اکتشاف و بهره‌برداری ژنتیکی می‌باشند. در تحقیق پیش‌رو تنوع ژنتیکی ۱۱۴ توده بومی جو وحشی جمع‌آوری شده از غرب کشور، توسط نشانگر مولکولی EST-SSR مورد بررسی قرار گرفته است که هدف بررسی میزان تنوع ژنتیکی این ژنوتیپ‌های بومی و ارزیابی کارایی این نشانگر در تعیین میزان تنوع ژنتیکی موجود در ژنوتیپ‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ابتدا به‌منظور استخراج DNA بذور در گلدان کشت گردید، استخراج DNA به‌روش CTAB تغییر یافته برای هر ژنوتیپ انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام گرفت. محصول PCR جهت نمایان شده قطعات تکثیری در ژل آگارز ۴ درصد با بافر واکنش TBE یک درصد و رنگ Safe View تزریق گردید. به‌منظور انجام تجزیه و تحلیل‌های آماری، داده‌های حاصل در قالب ماتریسی آماده شد و پارامترهای مرتبط با آغازگرها و جمعیت‌ها ارزیابی گردید.

یافته‌ها: تعداد الل‌های تکثیر شده از ۲ تا ۴ الل برای نشانگرها متفاوت بود و آغازگرهای مورد بررسی در مجموع ۴۰ الل در ژنوتیپ‌های مورد بررسی با میانگین ۲/۸۵ به ازای هر نشانگر تکثیر کردند. متوسط درصد چند شکلی برای آغازگرهای مورد مطالعه برابر با ۹۶/۴۲ درصد بود. محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) از ۰/۳۹۷ تا ۰/۱۸۹ متغیر بود. نتایج نشان داد که بیشترین سطح تنوع در جمعیت‌های استان لرستان و کمترین تنوع در جمعیت‌های استان کردستان وجود دارد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را در ۱۴ گروه قرار داد که بر اساس گروهبندی تنوع ژنتیکی تا حدودی با پراکنش جغرافیایی تطبیق داشت. همچنین نتایج تجزیه به مختصات اصلی تا حدودی با تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد تنوع خوبی در میان جمعیت‌های مورد بررسی وجود دارد. همچنین چند شکلی مناسبی نیز در بین آغازگرها مشاهده گردید. آغازگرهای GBM1221 با ۳ الل، GBM1461 با ۳ الل و SCSSR04163 با ۴ الل که بهترین چند شکلی را داشتند، به‌عنوان آغازگرهای برتر به‌منظور استفاده در تحقیقات بعدی جو معرفی می‌گردند. وجود تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت‌های طبیعی جو وحشی *H. spontaneum* نشان می‌دهد که ژرم پلاسم این گیاه را می‌توان در رویشگاه‌های طبیعی حفاظت نمود. همچنین این تنوع منبع ارزشمندی برای شناسایی نشانگرهای مولکولی آگاهی بخش برای صفات مختلف فنوتیپی است.

واژه‌های کلیدی: تنوع، جو وحشی، ساختار ژنتیکی، نشانگر مولکولی

مقدمه

جو (*Hordeum vulgare*) یکی از محصولات مهم ایران می‌باشد که در هر دو شرایط آبی و دیم کشت می‌گردد و از نظر سطح زیر کشت در بین محصولات زراعی بعد از گندم در رتبه دوم قرار داد. بر اساس آمارها حدودا ۶۰٪ بصورت دیم و ۴۰٪ آبی کشت می‌شود. میانگین عملکرد این محصول بصورت دیم در ایران ۷۰۰ تا ۹۰۰ کیلو گرم در هکتار گزارش گردیده است (۲). جو زراعی (*H. vulgar*) و جد زراعی آن (*H. spontaneum*) سیستم مدل عالی و اقتصادی برای اکتشاف و بهره‌برداری ژنتیکی می‌باشند. هر دو گونه، دیپلویید و قابل تلاقی با یکدیگر بوده و مجموعه‌ای از ابزار ژنومیکس مشتمل بر نقشه‌های لینکاژی، داده‌های QTL، ESTها، کتابخانه‌های BAC و آرایه‌ها برای تجزیه ژنوم H، که همولوگ ژنوم‌های A، B و D گندم هگزاپلویید است، موجود می‌باشد (۱۶). نواحی غرب ایران، خاورمیانه و هلال حاصلخیز شامل مرکز تنوع جو وحشی می‌باشند (۳۰،۲۷). تنوع ژنتیکی امکان سازگاری گونه‌ها را با شرایط متغیر محیطی فراهم می‌کند و به گونه‌ها اجازه می‌دهد تا سازگاری‌های منحصر به فرد خود را توسعه و بروز دهند (۴۹،۶). شناخت روابط ژنتیکی و مطالعه تنوع ژرم پلاسم‌های موجود، به‌عنوان یک هدف با ارزش در اصلاح و بهبود راهکارهای حفاظت از گونه‌ها است. نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی در توده‌های مختلف، در انتخاب افراد برای ورود ژن‌های مطلوب از ژرم پلاسم‌های متنوع به درون پایه زراعی کمکی مؤثر است (۴۰،۱۳). از این رو جهت بهره‌برداری پایدار از منابع ژنتیکی و تدوین راهکارهای حفاظت مؤثر، دسترسی به دانش مناسب از سطوح و الگوهای تنوع ژنتیکی ضروری می‌باشد (۲۶). شناخت تنوع ژرم‌پلاسمی و روابط ژنتیکی بین مواد اصلاحی، امری مهم در اجرای موفق برنامه‌های اصلاحی است. همچنین بررسی تنوع ژنتیکی درون ژرم‌پلاسم‌ها، به‌منظور طبقه‌بندی قابل اعتماد ژنوتیپ‌ها می‌تواند شناسایی ژنوتیپ‌هایی را که برای هدف‌های اصلاحی خاص قابلیت بکارگیری دارند تسهیل نماید (۳۸،۳۲). به‌منظور مطالعه تنوع ژنتیکی گیاهی چه در محیط طبیعی و چه در خارج از محیط طبیعی باید چهار مؤلفه تحقیق (نوع نشانگر مناسب، روش ایجاد نشانگر، ارزیابی نشانگر و روش آنالیز داده‌های بدست آمده) را به خوبی

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

مشخص کرد. هدف به‌نژادگر از مطالعه تنوع ژنتیکی می‌تواند شناسایی هویت نمونه‌ها و تعیین شباهت ژنتیکی دو یا چند نمونه (مشابهت یا تفاوت دو یا چند نمونه از نظر ژنتیکی، تعیین زیر مجموعه‌های جدا شده از یک جمعیت واحد، وجود ارقام مترادف یا همنام به‌عنوان نمونه‌های موجود در بانک ژن، تعیین وقوع تبادلات ژنتیکی بین نمونه‌ها یا جمعیت‌ها در گذر زمان) باشد. با اطلاع از پتانسیل ژنتیکی ارقام، می‌توان ضمن حفظ خلوص ژنتیکی (۲۹)، روابط ژنتیکی آنان را برآورد و ریخته‌های ارثی را به‌صورت دقیق شناسایی کرد (۳۵). نشانگرهای ژنتیکی دارای کاربردهای زیادی در بررسی تنوع ژنتیکی، تسهیل اینتروگسیون، انگشت نگاری ژنی، شناسایی ارقام، انتخاب دقیق والدین مناسب برای تولید دورگ‌های قوی، یافتن روابط خویشاوندی بین گونه‌ها و تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنیکی می‌باشند (۳۶). نشانگرهای مولکولی عناصر زیستی هستند که به‌عنوان ابزاری ژنتیکی برای یافتن و مشخص کردن یک فرد، بافت، سلول، هسته سلولی، کروموزوم یا ژن بکار می‌روند. نشانگرهای مولکولی از نظر بسیاری از ویژگی‌ها مانند درجه چندشکلی، غالب یا همبارز بودن، تعداد جایگاه‌های تجزیه شده در هر آزمایش، توزیع در سطح کروموزوم، تکرارپذیری، نیاز یا عدم نیاز به توالی‌یابی DNA الگو و هزینه مورد نیاز با همدیگر متفاوتند (۵۰). نشانگرهای مولکولی DNA به‌دلیل برخورداری از ویژگی چندشکلی در سطح و نیز قابلیت آن‌ها برای بیان شدن در همه بافت‌ها و مراحل مختلف رشد گیاه، از پایداری بالایی برخوردارند (۳۳). چرا که این نشانگرها تحت تأثیر شرایط محیطی نیستند (۲۴). نشانگرهای ریزماهواره به عنوان یکی از مفیدترین ابزارهای مولکولی در حوزه ژنومیکس مطرح هستند و در توارث هم‌بارز، تکرارپذیری، اختصاصی بودن و برخورداری از کیفیت و کمیت لازم برخوردارند (۵۱،۱۹،۷). مهم‌ترین کاربرد ریزماهواره‌ها، مطالعه تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه ژنومی و نشانگری و نیز همسانه کردن ژنی و پژوهش‌های اکولوژیکی و تکامل جمعیت‌ها، انتخاب نشانگر همراه با صفت مورد نظر، خالص سازی مواد ژنتیکی و انجام مطالعات سیتوژنتیکی است (۴). نشانگرهای EST-SSR[1] گروه مهمی از ریزماهواره محسوب می‌شوند که در نواحی کد کننده ژن قرار گرفته‌اند و منبع ارزشمندی در رابطه با عملکرد ژن‌ها به‌شمار می‌روند (۴۷،۴۵). اخیراً با افزایش سریع توالی‌هایEST در پایگاه‌های اطلاعاتی، استخراج EST از SSR آسان‌تر شده و تا به امروز نشانگرهای EST-SSR به طور موفقیت آمیز توسعه یافته و در گونه‌های گیاهی زیادی از جمله برنج، گندم، جو، سویا، پنبه، سیب زمینی شیرین، مرکبات و غیره به‌کاربرده شده‌اند. از آنجایی که EST-SSRها متعلق به بخش‌های بیان شده‌ی ژنوم هستند بنابراین چند شکلی منعکس شده توسط این نشانگرها می‌تواند روابط بین گونه‌ها و واریته‌ها را با کارایی بالاتری مشخص کند (۴۶). فیضی و همکاران (۹) با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره QTLهای موثر در افزایش غلظت و محتوای عنصر روی در دانه جو را شناسایی کردند.

در تحقیق پیش رو تنوع ژنتیکی ۱۱۴ توده بومی جو وحشی (*H. spontaneum*) جمع‌آوری شده از غرب کشور، توسط نشانگر مولکولی EST-SSR مورد بررسی قرار گرفته است که هدف بررسی میزان تنوع ژنتیکی این ژنوتیپ‌های بومی و ارزیابی کارایی این نشانگر در تعیین میزان تنوع ژنتیکی موجود در ژنوتیپ‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر بر روی ۱۱۴ ژنوتیپ جو وحشی (*H. spontaneum*) جمع‌آوری شده از استان‌های غربی کشور که در حوزه زاگرس (کرمانشاه، کردستان، ایلام و لرستان) قرار داشتند انجام گرفت. ابتدا به‌منظور استخراج DNA بذور در گلدان کشت گردید (جدول ۱).

1- Expressed Sequence Tag- Simple Sequence Repeat

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق

Table 1. Specifications of genotypes used in this research

شماره ژنوتیپ Genotype number	محل جمع‌آوری Gathering location	منطقه Region	شماره ژنوتیپ Genotype number	محل جمع‌آوری Gathering location	منطقه Region	شماره ژنوتیپ Genotype number	محل جمع‌آوری Gathering location	منطقه Region
1	Kermanshah	Mahidasht	39	Lorestan	Kuhdasht	77	Kurdistan	Saqez
2	Kermanshah	Kermanshah	40	Lorestan	Rumeshkan	78	Lorestan	Chaghalvandi
3	Ilam	Dehloran	41	Lorestan	Zagheh	79	Kurdistan	Marivan
4	Ilam	Musian	42	Lorestan	Kuhdasht	80	Lorestan	Khorramabad
5	Kermanshah	Halashi	43	Kermanshah	Gilanegharb	81	Kurdistan	Baneh
6	Ilam	Shirvan	44	Lorestan	Dorud	82	Kermanshah	Paveh
7	Ilam	Darreh Shahr	45	Lorestan	Azna	83	Kermanshah	Ravansar
8	Ilam	Abdanan	46	Lorestan	Veysian	84	Kurdistan	Divandarreh
9	Ilam	Darreh Shahr	47	Lorestan	Poldokhtar	85	Kurdistan	Bukan
10	Ilam	Ilam	48	Ilam	Sarableh	86	Kurdistan	Takab
11	Ilam	Darreh Shahr	49	Kurdistan	Kellaterzan	87	Kermanshah	Sonqor
12	Ilam	Dehloran	50	Kermanshah	Gwawar	88	Kermanshah	Kuzaran
13	Kurdistan	Zarrineh	51	Ilam	Mehran	89	Kurdistan	Sarvabad
14	Kurdistan	Saqez	52	Lorestan	Darb-e Gonbad	90	Kurdistan	Saqez
15	Kurdistan	Ziwiye	53	Lorestan	Khorramabad	91	Kurdistan	Palangan
16	Ilam	Abdanan	54	Kermanshah	Kerend-e Gharb	92	Kurdistan	Qorveh
17	Kurdistan	Deh Kalan	55	Lorestan	Kuhdasht	93	Kurdistan	Divandarreh
18	Ilam	Holeylan	56	Kermanshah	Gilanegharb	94	Kurdistan	Hasan Abad
19	Kurdistan	Qorveh	57	Lorestan	Dorud	95	Kermanshah	Harsin
20	Kermanshah	Javanrud	58	Kermanshah	Srmast	96	Ilam	Dehloran
21	Kermanshah	Tazeabad	59	Lorestan	Dowreh	97	Kurdistan	Kamyaran
22	Lorestan	Khorramabad	60	Ilam	Lowmar	98	Kermanshah	Qasreshirin
23	Kurdistan	Marivan	61	Ilam	Shirvan	99	Ilam	Ilam
24	Kermanshah	Sarpol-e Zahab	62	Ilam	Malekshahi	100	Kurdistan	Chahardoli
25	Lorestan	Borujerd	63	Lorestan	Poldokhtar	101	Ilam	Shirvan
26	Kermanshah	Gahvareh	64	Ilam	Chagha Sabz	102	Kurdistan	Sarvabad
27	Kermanshah	Homeyl	65	Ilam	Malekshahi	103	Kermanshah	Kermanshah
28	Lorestan	Selseleh	66	Ilam	Abdanan	104	Lorestan	Kuhdasht
29	Lorestan	Khorramabad	67	Kurdistan	Sanandaj	105	Kermanshah	Gilanegharb
30	Ilam	Holeylan	68	Ilam	Darreh Shahr	106	Ilam	Tulab
31	Kermanshah	Kangavar	69	Kurdistan	Abidar	107	Lorestan	Khorramabad
32	Kermanshah	Gilanegharb	70	Lorestan	Zagheh	108	Lorestan	Dorud
33	Kermanshah	Harsin	71	Lorestan	Azna	109	Ilam	Lowmar
34	Kurdistan	Bijar	72	Kurdistan	Muchesh	110	Ilam	Shirvan
35	Kermanshah	Harsin	73	Kermanshah	Homeyl	111	Kermanshah	Sahneh
36	Lorestan	Dorud	74	Kurdistan	Kamyaran	112	Kermanshah	Bisotun
37	Ilam	Malekshahi	75	Kermanshah	Eslamabad-e-Gharb	113	Lorestan	Aligudarz
38	Kurdistan	Baneh	76	Lorestan	Kuhdasht	114	Lorestan	Poldokhtar

استخراج DNA به روش CTAB تغییر یافته (۴۳) برای هر ژنوتیپ در آزمایشگاه زیست فناوری دانشگاه پیام نور مرکز کرمانشاه انجام شد. بعد از انتقال ۵۰ میلی‌گرم نمونه خرد شده با ازت مایع به تیوب، ۸۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج (۴ گرم CTAB، ۱۶/۳۶ گرم NaCl، ۳/۱۵ گرم Tris-HCl، ۱/۴۸ گرم EDTA، ۴۰۰ میکرولیتر β-mercaptoetchanol در pH=۸ به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر) به تیوب‌ها اضافه شد و به‌مدت نیم ساعت نمونه‌ها در حمام آبی با دمای ۶۵ ^{o}C قرار داده شدند. سپس به هر نمونه مقدار ۸۰۰ میکرولیتر محلول کلروفرم-ایزوآمیل الکل (۲۴:۱) اضافه گردید و به‌مدت ۶۰ دقیقه خوب بهم زده شد تا محلول داخل تیوپ یکنواخت شود. پس از آن نمونه‌ها را به‌مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ و فاز رویی به یک تیوب تمیز منتقل گردید و به هر تیوب مقدار ۵۰۰ میکرولیتر محلول ایزوپروپانول سرد اضافه و به‌مدت دو ساعت در فریزر در دمای ۲۰^{o}C- قرارداده شدند. سپس تیوب‌ها را به‌مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید و بعد از آن فاز مایع به آرامی خالی و به هر تیوب مقدار ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۸۰٪ سرد اضافه و یک سانتریفیوژ کوتاه صورت گرفت و به آرامی فاز مایع خالی شد (این مرحله دو بار تکرار شد) در پایان نیز تیوب‌ها در دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شوند و بعد به هر تیوب میزان ۱۰۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل اضافه گردید. بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل ۰/۸ درصد آگارز و دستگاه اسپکتوفتومتر صورت گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم ۲۰ میکرولیتر (۵۰ نانوگرم DNA الگو، ۲ میلی مولار MgCl2، ۰/۰۵ میلی‌مولار از هر dNTP، ۰/۲ میکرومول آغازگر، یک واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و بافر واکنش به‌مقدار ۱x) انجام شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۵ دقیقه و ۴۰ چرخه حرارتی بود که در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرشت‌سازی به ترتیب ۴۵ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان اتصال آغازگر ۴۵ ثانیه و دمای آن برای هر آغازگر متفاوت بود (۵۲ تا ۶۲ درجه). همچنین زمان و دمای توسعه رشته نیز به‌ترتیب ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. توسعه نهایی به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در این آزمایش از ژل

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

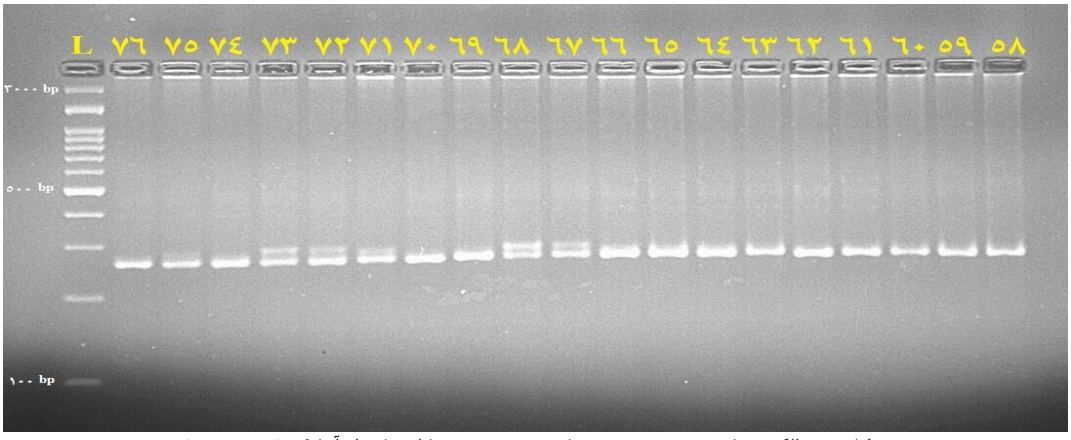
آگارز ۴ درصد با بافر واکنش TBE یک درصد و رنگ Safe View استفاده شد. به‌منظور تزریق نمونه در ژل، ابتدا میزان ۵ میکرولیتر بافر نمونه‌گذاری به DNA های تکثیر شده اضافه و سپس میزان ۱۵ میکرولیتر از هر نمونه به درون چاهک‌های ایجاد شده در ژل آگارز بارگزاری و با ولتاژ ۱۰۰ و میزان ۲/۵ ساعت حرکت صورت گرفت. همچنین از دستگاه Gel Document Quantum ST4 جهت نمایان شده نوارها استفاده گردید. به‌منظور انجام تجزیه و تحلیل‌های آماری، اطلاعات حاصل از ژل‌ها و الگوی تفرق نوارها در طی الکتروفورز، داده‌های حاصل در قالب ماتریسی (صفر عدم حضور باند و یک حضور باند) آماده شد. برای هر نشانگر تعداد الل‌ها در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بصورت a، b، c و d نیز نامگذاری شدند. پارامترهای مرتبط با ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها نظیر تنوع ژنی Nei (H)، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، هتروزیگوسیتی کل (Ht)، جریان ژنی (Nm) و شاخص تمایز ژنی (Gst)، شاخص تثبیت (Fst) با کمک نرم افزار PopGene v.1.32 محاسبه شد. محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC[1]) از طریق فرمول

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

با استفاده از نرم افزار Power Marker محاسبه گردید، در اینجا p برابر با مجموع نوارهای هر لوکوس برای کلیه ژنوتیپ‌ها است (۱۷). همچنین شاخص نشانگری (MI[2]) از رابطه MI= PIC × N×B بدست آمد که N تعداد کل باندها و β نسبت چندشکلی برای هر آغازگر بود (۳۴). شاخص نسبت چندگانه موثر (EMR[3]) از رابطه EMR= NPB × β که از درصد چندشکلی (β) ضربدر تعداد نوارهای چندشکل (NPB) بدست آمد (۲۲) و قدرت تفکیک (RP[4]) از رابطه RP=∑IB محاسبه گردید. RP=∑IB در رابطه [(IB=1-(0.5-Pi) ×2] و Pi نسبت افراد دارای نوار است (۱). در پایان نیز داده‌های حاصل، با استفاده از نرم افزارهای NTSYSpc 2.02e برای محاسبه آزمون مانتل، DARwin 6 جهت ماتریس فاصله و تجزیه به مختصات اصلی و نرم افزار MEGA برای تجزیه کلاستر مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

تنوع ژنتیکی ۱۱۴ ژنوتیپ جمع‌آوری شده از چهار استان غرب کشور با استفاده از ۱۴ نشانگر مولکولی EST-SSR مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور بررسی بهتر، پراکنش آغازگرها بصورتی انتخاب گردید که روی هر کروموزوم ۲ نشانگر قرار گیرد. تعداد الل‌های تکثیر شده از ۲ تا ۴ الل برای نشانگرها متفاوت بود. نشانگرهای SCSSR04163 و GBM1110 بیشترین تعداد الل و نشانگرهای GBM1459، GBM1176، SCSSR18076 و GBM1212 کمترین تعداد الل را تولید نمودند (جدول ۲). گونگ و همکاران (۱۱) با استفاده از ۵۲ نشانگر SSR تنوع ژنتیکی ۸۹ ژنوتیپ جو را مورد بررسی قرار دادند و در پایان میانگین الل‌های تکثیر شده را ۴ گزارش کردند. شکل ۱ الگوی باندی برای برخی ژنوتیپ‌ها را با استفاده از آغازگر GBM1126 نشان می‌دهد. آغازگرهای مورد بررسی در مجموع ۴۰ الل در ژنوتیپ‌های مورد بررسی با میانگین ۲/۸۵ به ازای هر نشانگر تکثیر کردند. گزارش‌های مختلفی در خصوص تعداد الل‌های تکثیر شده در جو وجود دارد. در مطالعه‌ای برای بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ جو وحشی و جو زراعی با استفاده از نشانگرهای SSR و EST-SSR که توسط ژنگ و همکاران (۵۲) انجام گرفت، میانگین تعداد الل‌های تکثیر شده برای ۶۹ لوکوس ۳/۱۴ گزارش گردید. علت تفاوت در تعداد الل بین پژوهش‌های متفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت ژنوتیپ‌ها، تعداد آغازگرها و تفاوت در پایه ژنتیکی آنها باشد (۳۹). الل‌های مشاهده شده در هر جایگاه ژنی بشدت تحت تاثیر اندازه نمونه بوده و به همین جهت این امکان وجود دارد که با آزمایشات گوناگون و تعداد نمونه متفاوت تعداد الل‌های مختلفی بدست آید.



شکل ۱- الگوی باندی برخی ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از آغازگر GBM1126
Figure 1. Band pattern of some studied genotypes using GBM1126 primer

میزان فراوانی الل‌های مختلف و فراوانی الل رایج (اللی که در بین کلیه الل‌های مشاهده شده در یک نشانگر بیشترین فراوانی را داشته باشد) در جدول ۲ برای هر آغازگر محاسبه گردیده است. نتایج نشان داد که بیشترین فراوانی اللی مربوط

1- Polymorphic information content 2- Marker Index 3- Effective multiplex ratio 4-Resolving power

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

به آغازگر GBM1212 در الل B (۰/۹۷) می‌باشد. همچنین کمترین میزان نیز در همین آغازگر و الل A مشاهده شد. فراوانی الل رایج از ۰/۴۹ تا ۰/۹۷ متغیر بود بنحوی که بیشترین فراوانی در آغازگر GBM1212 و کمترین میزان در آغازگر SCSSR04163 مشاهده گردید که این نتایج با گزارشات گنج خانلو و همکاران (۱۰) و نام‌آور و همکاران (۲۸) مطابقت داشت.

جدول ۲- فراوانی الل‌های تکثیر شده و الل رایج در آغازگرهای مورد بررسی

Table 2. Frequency of amplified alleles and common alleles in the studied primers

پرایمر (Primer)	A	B	C	D
GBM1461	0.2368	0.636*	0.1272	
SCSSR04163	0.1754	0.2632	0.4956*	0.0658
GBM1459	0.9561*	0.0439		
SCSSR03381	0.0395	0.9167*	0.0439	
GBM1110	0.0921	0.1623	0.636*	0.1096
SCSSR25691	0.0482	0.7851*	0.1667	
GBM1221	0.2456	0.557*	0.1974	
SCSSR20569	0.114	0.807*	0.0789	
GBM1176	0.0482	0.9518*		
SCSSR18076	0.8509*	0.1491		
GBM1212	0.0263	0.9737*		
SCSSR05599	0.1404	0.7368*	0.1228	
GBM1126	0.0658	0.9079*	0.0263	
SCSSR15864	0.1667	0.6754*	0.1579	

*: الل وحشی *: Wild allel

میزان چند شکلی آغازگرها در نشانگرهای EST-SSR بین ۵۰ تا ۱۰۰ درصد بود که نشان دهنده تنوع بالا بین ژنوتیپ‌ها است. متوسط درصد چند شکلی برای آغازگرهای مورد مطالعه برابر با ۹۶/۴۲ درصد بود. محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) از ۰/۳۹۷ تا ۰/۱۸۹ با میانگین ۰/۲۶ متغیر بود. بیشترین میزان PIC در آغازگرهای GBM1221 با ۳ الل، GBM1461 با ۳ الل و SCSSR04163 با ۴ الل مشاهده شد. با توجه به اینکه میزان PIC در این پژوهش کمتر ۰/۵۰ بود نشاندهنده این است که نشانگرهای انتخاب شده پراکندگی مناسبی در ژنوم ژنوتیپ‌های مورد بررسی داشته‌اند (جدول ۳). محتوای اطلاعات چند شکل یکی از شاخص‌های مهم برای مقایسه نشانگرهای مختلف از لحاظ قدرت تمایز آنها می‌باشد. این شاخص نشاندهنده توانایی نشانگر برای شناسایی چند شکلی درون یک جمعیت است که میزان آن به تعداد آلل‌ها و فراوانی نسبی آلل‌ها بستگی دارد (۵). شمسی فر و همکاران (۴۲) در بررسی تنوع ژنتیکی برخی ارقام جو با استفاده از نشانگر مولکولی SSR میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی را ۰/۳۸ گزارش کردند. همچنین نام‌آور و همکاران (۲۸) دامنه PIC را بین ۰/۳۷ تا ۰/۸۱ در بررسی خود بر روی ژرم پلاسم بین اللملی *H. spontaneum* با استفاده از نشانگر SSR گزارش کردند. متفاوت بودن میزان PIC در بررسی‌های صورت گرفته می‌تواند به دلایل مختلفی شامل، تفاوت در تعداد و نوع نشانگر، وحشی یا زراعی بودن گیاهان مورد بررسی و تعداد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ارتباط داشته باشد (۸). همچنین میزان PIC به عوامل دیگری از جمله تعداد الل در هر جایگاه، طول آغازگرهای مورد استفاده و میزان نوکلئوتیدهای T و G که همبستگی مثبتی با میزان چند شکلی دارد وابسته است (۳۷). میانگین شاخص نشانگری ۰/۷۵۱ بود که بیشترین میزان را نشانگر SCSSR04163 و کمترین میزان را نشانگر GBM1212 داشتند. این شاخص پتانسل هر آغازگر در تولید نوار بیشتر را نشان می‌دهد (۳۴). برای شاخص نسبت چندگانه موثر (EMR) آغازگرهای SCSSR04163 و GBM1110 بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. در شاخص تفکیک (RP) نیز ملاحظه شد که آغازگرهای SCSSR04163 و SCSSR18076 دارای بیشترین میزان و آغازگر GBM1212 دارای کمترین میزان بود. شاخص قدرت تفکیک (RP) معیار مناسبی برای انتخاب آغازگر مناسب می‌باشد، زیرا هم از تعداد افراد دارای باند و هم تعداد آلل تاثیرپذیری دارد (۱). میانگین آلل‌های مؤثر برای ۱۴ نشانگر بر اساس آغازگرهای مورد بررسی برابر ۱/۶۶ بود که بیشترین مقدار آن ۲/۸۵ برای نشانگر SCSSR04163 و کمترین مقدار آن ۱/۰۵ برای آغازگر GBM1212 برآورد گردید. تعداد آلل مؤثر رابطه مستقیمی با تنوع ژنی دارد و مقدار آن در محدوده ۲ تا ۹ می‌باشد. بنابراین، مقادیر اندک تعداد آلل مؤثر منجر به کاهش تنوع ژنی می‌شود (۴۸). تنوع ژنی یا هتروزیگوتی مورد انتظار در محدوده ۰/۰۵۱ تا ۰/۶۵ بود که بیشترین میزان برای نشانگر SCSSR04163 و کمترین آن در نشانگر GBM1212 مشاهده گردید (جدول ۳). این شاخص احتمال متفاوت بودن دو الل تصادفی از دو فرد را نشان می‌دهد. ماتوس و هایز (۲۵) بیان کردند که مقادیر بالای تنوع ژنی توانایی نشانگرها را در تمایز ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

جدول ۳- اطلاعات نشانگرهای EST-SSR مورد مطالعه در ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گیاه جو وحشی (*H. Spontaneum*)
Table 3. Information on EST-SSR markers studied in assessing the genetic diversity of wild barley (*H. Spontaneum*) genotypes

نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر ('5-3') Primer ('5-3') sequence	تعداد آلل-های مشاهده شده (Na)	مکان-های چند شکل (MPL)	درصد چندشکلی (PPL٪)	محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC)	شاخص نشانگری (MI)	نسبت چندگانه موثر (EMR)	شاخص قدرت تفکیک (RP)	تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)	شاخص اطلاعات شانون (I)	تنوع ژنی Nei (H)	مکان کروموزومی Chromosomal location
GBM1461-F GBM1461-R	AAACCATGCATTCTTCAGAGATTTAGACCGACCCGATGAAG	3.000	3.000	100٪	0.360	1.081	3.000	2.298	2.0977	0.8913	0.5233	H1
SCSSR04163-F SCSSR04163-R	GAAGAAACAACCCAACTTCC AGGATCGTACGAAGAACAGC	4.000	4.000	100٪	0.359	1.438	4.000	2.509	2.8572	1.1836	0.65	H1
GBM1459-F GBM1459-R	AACACATCCATACTTCCCCGAGCTGAATAAATGCCCATGC	2.000	2.000	100٪	0.192	0.184	2.000	1.982	1.0916	0.18	0.0839	H2
SCSSR03381-F SCSSR03381-R	CAGGGACGTACAATATTACCG AATAAGCAGGGTACCTTTTGG	3.000	3.000	100٪	0.204	0.613	3.000	2.158	1.1852	0.3445	0.1562	H2
GBM110-F GBM110-R	CACCGAAGAAAATCCACCATCACGCAAGCTTAGAACCTCC	4.000	4.000	100٪	0.297	1.189	4.000	2.193	2.2159	1.045	0.5487	H3
SCSSR25691-F SCSSR25691-R	ACGAGCTGATATCCCACGAG TCCGAGCTTCTTATCTTTGG	3.000	3.000	100٪	0.245	0.735	3.000	2.228	1.5469	0.6348	0.3535	H3
GBM1221-F GBM1221-R	ACCAGCAATCCAAGTTACGG TGCCTTGGTCTTGGTGTGTA	3.000	3.000	100٪	0.397	1.192	3.000	2.053	2.4417	0.9911	0.5905	H4
SCSSR20569-F SCSSR20569-R	ATCGAGCACCTACGAACC TTGCATAGCGGAAGTAATCC	3.000	3.000	100٪	0.220	0.660	3.000	2.351	1.4914	0.6211	0.3295	H4
GBM176-F GBM176-R	TATACATCAGCGGGCCTTTTCTCCAACCTCGCAAAGAGTC	2.000	2.000	100٪	0.189	0.377	2.000	2.158	1.1011	0.1933	0.0918	H5
SCSSR18076-F SCSSR18076-R	CAGCTAGTCGCGCATTTG GAGTCCACTGCTGCCTTG	2.000	2.000	100٪	0.224	0.447	2.000	2.491	1.3401	0.4212	0.2538	H5
GBM212-F GBM212-R	TGTTGCAAGAAGCAAGGATGGCGCTTACTCTCTCGTCGTC	2.000	1.000	50٪	0.190	0.095	0.500	0.105	1.054	0.1217	0.0512	H6
SCSSR05599-F SCSSR05599-R	TTCCATCATAACAGCAATGG TTCGTCGAAGGCTATGTAGG	3.000	3.000	100٪	0.286	0.859	3.000	2.421	1.731	0.7582	0.4223	H6
GBM126-F GBM126-R	AGCAGATGATTCCCCAGATGGCCCACGGTGTAGATGTCTT	3.000	3.000	100٪	0.211	0.634	3.000	2.228	1.2058	0.3625	0.1707	H7
SCSSR15864-F SCSSR15864-R	GCATAAACGGGTGTAAGAGC CATCCAGTTCAGAGGATAGAGC	3.000	3.000	100٪	0.337	1.012	3.000	2.158	1.9649	0.8551	0.4911	H7
میانگین		2.857	2.786	96.42٪	0.265	0.751	2.750	2.095	1.666	0.615	0.337	

میانگین آلل‌های مشاهده شده و الل مؤثر برای ۴ جمعیت بر اساس مناطق جمع‌آوری بذور به‌ترتیب برابر ۲/۷۶ و ۱/۶۴ بود که بیشترین مقدار الل موثر ۱/۶۷ برای جمعیت لرستان و کمترین مقدار آن ۱/۵۹ برای جمعیت کردستان بود. در مطالعه نام‌آور و همکاران (۲۸) تعداد الل موثر از ۱/۶۰ تا ۵/۳۱ گزارش گردید همچنین حاج منصور و همکاران (۱۴) میانگین تعداد الل موثر را در ۶۴ رقم جو زراعی ۵/۲۳ اعلام کرد. تفاوت در میان تعداد الل میانگین و الل موثر در هر مکان ژنی وجود الل‌های نادر (الل‌هایی که دارای فراوانی کمتر از ۵٪ هستند) است که در یک یا چند ژنوتیپ وجود دارند یعنی مختص یک یا چند ژنوتیپ می‌باشند (۱۸). میزان یکنواختی هر یک از جمعیت‌ها از طریق محاسبه نسبت تعداد آلل‌های مؤثر به تعداد آلل‌های مشاهده شده تعیین گردید که این نسبت دامنه‌ای بین ۰/۵۶ تا ۰/۶۲ و با میانگین ۰/۵۹ داشت. اگر این نسبت بالا باشد نشاندهنده این است که جمعیت مورد نظر نسبت به سایر جمعیت‌ها از توزیع یکنواخت‌تری برخوردار می‌باشد که در نتایج به دست آمده جمعیت ایلام بیشترین یکنواختی را به خود اختصاص داده است، که این یکنواختی نشاندهنده این است که نسبت آلل‌هایی که فراوانی برابر دارند به کل آلل‌ها از سایر جمعیت‌ها بیشتر است و در جمعیت کرمانشاه این نسبت کمترین مقدار را دارد. میانگین شاخص اطلاعات شانون برای چهار جمعیت ۰/۵۸ بود که بیشترین مقدار آن برای جمعیت لرستان و کمترین مقدار آن برای جمعیت کردستان بود. شاخص اطلاعات شانون بیانگر تنوع ژنتیکی در درون جمعیت‌ها می‌باشد. همچنین بر اساس شاخص تنوع ژنتیکی نی تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها از

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

۰/۳۰۶ تا ۰/۳۳۹ بود بیشترین میانگین سطح این تنوع در جمعیت لرستان و کمترین میانگین سطح این تنوع در جمعیت کردستان بود (جدول ۴).

جدول ۴- میانگین پارامترهای ژنتیکی درون جمعیت‌های جو وحشی (*H. spontaneum*)
Table 4. Mean genetic parameters within wild barley populations (*H. spontaneum*)

جمعیت Populations	تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)	تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)	شاخص اطلاعاتی شانون (I)	تنوع ژنی Nei (H)	درصد چندشکلی (PPL٪)	Ne/Na
Kermanshah	2.857	1.622	0.591	0.327	100	0.567
Ilam	2.714	1.699	0.603	0.339	100	0.626
Kurdistan	2.642	1.594	0.551	0.306	92.86	0.603
Lorestan	2.857	1.673	0.612	0.339	100	0.585
Average	2.767	1.647	0.5897	0.328	98.215	0.595

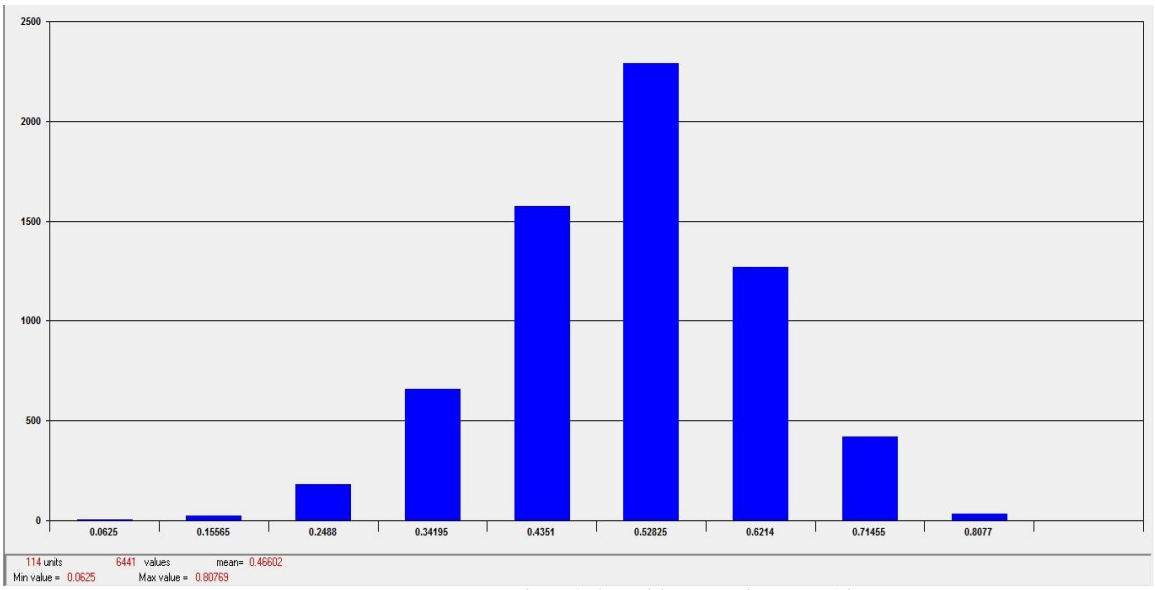
میانگین تنوع ژنتیکی درون (Hs)، بین (Dst) و کل (HT) به‌ترتیب ۰/۳۲۹، ۰/۰۰۸۵ و ۰/۳۴۸ بود (جدول ۵). نتایج نشان داد که مقدار Dst کمتر از Hs بود، این امر می‌تواند به دلیل تنوع زیاد در درون جمعیت‌های هر منطقه باشد. ضریب تمایز ژنی (Gst) معیاری آماری از تفرق ژنی است و دامنه آن از صفر تا یک متغییر است (۴۴) که به‌منظور بررسی تمایز بین جمعیت‌ها استفاده شد. در مطالعه حاضر Gst، ۰/۰۲۵۴ بود. در مطالعه جمعیت‌ها اگر مقدار این شاخص بالا باشد نشاندهنده این است که تمایز بین جمعیت‌ها پایین بوده است و بیشترین تنوع مربوط به درون جمعیت‌ها است این در حالی است که در تحقیق حاضر تمایز ژنتیکی پایینی مشاهده گردید. جریان ژنی (Nm) به عنوان شاخص حرکت و انتقال ژن‌ها در داخل و بین جمعیت‌ها می‌باشد که همبستگی منفی با تمایز ژن دارد (۱۲) اگر مقدار جریان ژنی کمتر از یک باشد جریان ژنی کم و اگر بیشتر از ۴ باشد جریان ژنی زیاد است (۲۱). در تحقیق حاضر جریان ژنی ۹/۶۰ به دست آمد این شاخص زمانی که از یک بالاتر باشد جمعیت‌ها در حال حفظ ارتباط ژنتیکی در طول زمان هستند و زمانی که کوچکتر از یک برآورد گردد جمعیت‌ها در طول زمان در حال واگرایی و دور شدن ژنتیکی هستند (۲۳). برای محاسبه تفرق ژنتیکی در بین جمعیت‌ها از شاخص Fst استفاده شد که مقدار آن برای نشانگرها ۰/۰۲۵۴ محاسبه گردید. اوزکِن و همکاران (۳۱) و کرم زاده و همکاران (۲۰) در بررسی تنوع ژنتیکی جوهای وحشی از شاخص Fst استفاده کردند.

جدول ۵- تنوع ژنتیکی در جمعیت های مورد بررسی جو وحشی (*H. spontaneum*)
Table 5. Genetic diversity in the studied populations of wild barley (*H. spontaneum*)

تعداد نمونه Samples	Ht	Hs	DST	Gst	Nm*	Fst
114	0.384	0.329	0.0085	0.025	9.604	0.025

برای استفاده از ذخایر ژنتیکی، اطلاع از فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها الزامی است، زیرا تلاقی بین جمعیت‌های با همولوژی بیشتر موفق‌تر می‌باشد. بعبارت دیگر هرچه فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها بیشتر باشد هتروزیس بیشتری میتوان مشاهده کرد (۱۵). تشابه ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از ضریب جاکارد محاسبه گردید و ماتریس عدم تشابه برای این ژنوتیپ‌ها تشکیل گردید. نتایج نشان داد فاصله میان ژنوتیپ‌ها از ۰/۰۶۲ تا ۰/۸۰۷ متغیر بود (جدول اضافه نشده است). بیشترین فاصله را ژنوتیپ‌های رومشکان-لرستان با بانه-کردستان (۰/۸۰۷) داشت. کم بودن شباهت بین دو ژنوتیپ از لحاظ نشانگرهای مولکولی نشاندهنده این است که این ژنوتیپ‌ها احتمالاً دارای اختلاف ژنومی بالایی هستند. کمترین فاصله را ژنوتیپ لومار و شیروان از استان ایلام (۰/۰۶۲) داشتند. بالا بودن میزان شباهت این ژنوتیپ‌ها نشاندهنده قرابت بالای آنها از لحاظ یکسانی اجداد و ژنوم‌ها از لحاظ نشانگرهای ریزماهواره مورد آزمایش می‌باشد. همچنین نمودار توزیع فراوانی نشان داد که بیشترین فاصله در بین ژنوتیپ‌ها در محدوده ۰/۵۲۸ و کمترین فاصله در ۰/۰۶۲ می‌باشد (شکل ۲). زنگ و همکاران (۵۲) و شاخاتره و همکاران (۴۱) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو وحشی با استفاده از ماتریس تشابه فاصله ژنتیکی میان ژنوتیپ‌ها را بررسی نمودند.

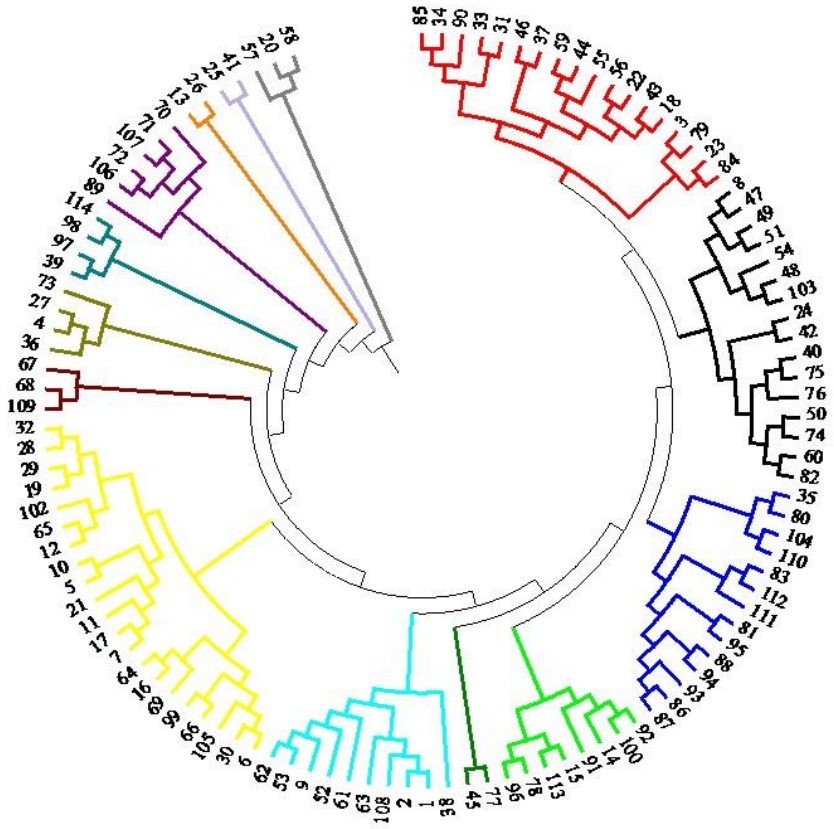
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]



شکل ۲- نمودار توزیع فراوانی فواصل ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی
Figure 2. Sample of the distribution of the frequency of genetic distances between the studied genotypes

میزان انطباق دندروگرام‌های ترسیم شده با ماتریس ضرایب عدم تشابه از طریق همبستگی کوفنتیک اندازه‌گیری شد. ضرایب کوفنتیک بین ماتریس‌های عدم تشابه دایس، جاکارد و تطابق ساده با الگوریتم UPGMA محاسبه گردید. نتایج نشان داد بیشترین ضریب مربوط به ماتریس عدم تشابه جاکارد با میزان ۰/۸۱ بود که بر همین اساس تجزیه خوشه‌ای صورت گرفت. در مطالعه اِری و همکاران (۳) نیز از ضریب تشابه جاکارد برای خوشه بندی ژنوتیپ‌ها استفاده شد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شکل ۴ ارائه شده است. همچنانکه ملاحظه می‌گردد ژنوتیپ‌ها در ۱۴ گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل ۱۸ ژنوتیپ، گروه دوم ۱۶ ژنوتیپ، گروه سوم ۱۴ ژنوتیپ، گروه چهارم ۸ ژنوتیپ، گروه پنجم ۲ ژنوتیپ، گروه ششم ۱۰ ژنوتیپ، گروه هفتم ۲۱ ژنوتیپ، گروه هشتم ۳ ژنوتیپ، گروه نهم ۴ ژنوتیپ، گروه دهم ۴ ژنوتیپ، گروه یازدهم ۶ ژنوتیپ، گروه دوازدهم ۲ ژنوتیپ، گروه سیزدهم ۲ ژنوتیپ و گروه چهارم ۳ ژنوتیپ بود. زنگ و همکاران (۵۲) تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو وحشی و زراعی را با استفاده از نشانگرهای SSR و EST- SSR ارزیابی قرارداد و در پایان ژنوتیپ‌ها را به ۸ گروه تفکیک کردند همچنین بیان شد که ژنوتیپ‌های جو وحشی دارای تنوع بسیار بالاتری از ژنوتیپ‌های جو زراعی بودند. همانطور که در دندروگرام رسم شده مشخص است برخی از ژنوتیپ‌های موجود در هر کلاستر از یک منطقه خاص جمع‌آوری شده‌اند. شاخاتره و همکاران (۴۱) در تحقیقات خود بر روی *H. spontaneum* بر اساس تجزیه خوشه‌ای گزارش کردند که ژنوتیپ‌های موجود در هر گروه از یک منطقه بودند. در مواردی نیز عدم ارتباط بین پراکنش جغرافیایی و با گروهبندی ژنوتیپ‌ها در تجزیه خوشه‌ای دیده شد که می‌تواند به دلیل ناکافی بودن تعداد مکان‌های تکثیر شده در این ژنوتیپ‌ها باشد. در مطالعه ابراهیمی و همکاران (۸) عدم ارتباط میان گروهبندی ژنوتیپ‌های *H. spontaneum* و پراکنش جغرافیایی ژنوتیپ‌ها گزارش شد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

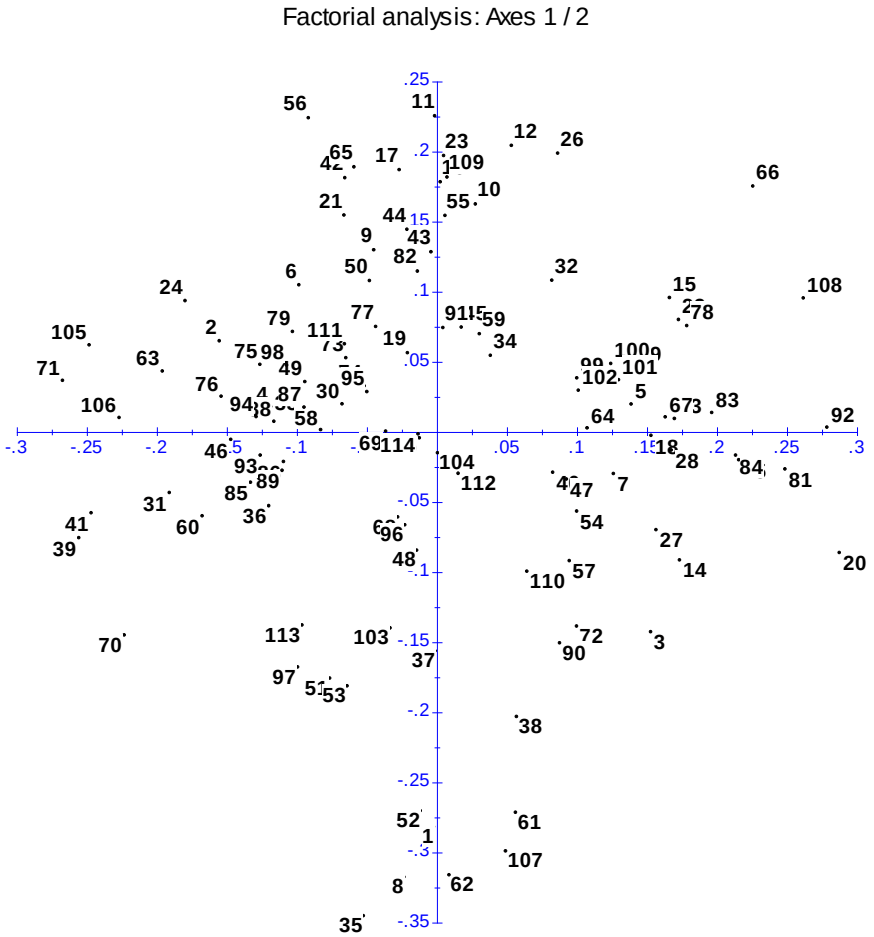


شکل ۳- دندروگرام حاصل از گروهبندی ژنوتیپ‌های جو وحشی *H. Spontaneum* به روش UPGMA
Figure 3. Dendrogram from grouping of wild barley genotypes of *H. Spontaneum* by UPGMA method

بر اساس داده‌های حاصل از آغازگرهای مورد بررسی تجزیه به مختصات اصلی برای ژنوتیپ‌ها انجام شد، که نتایج نشان داد محور مختصات‌های اول و دوم به‌ترتیب ۲۰/۱۵ و ۱۶/۳۱ درصد از واریانس موجود را توضیح دادند و در مجموع ۳۶/۴۶ درصد از واریانس با این دو محور بیان گردید که میتوان گفت آغازگرهای مورد بررسی در این تحقیق بطور نسبی در سطح ژنوم گیاه پراکنده هستند و در ناحیه یا نواحی از ژنوم متمرکز نشده‌اند (۲۶). بر اساس مختصات‌های اول و دوم دیاگرام پراکنشی ژنوتیپ‌ها رسم گردید (شکل ۴)، که این دیاگرام با نتایج تجزیه خوشه‌ای تا حدودی مطابقت داشت بنحوی که ژنوتیپ‌هایی که دارای بیشترین تشابه در ماتریس تشابه بودند و در تجزیه خوشه‌ای نیز در کنار یکدیگر قرار گرفته بودند، در تجزیه به مختصات اصلی نیز تا حدی در کنار یکدیگر قرار گرفتند. دلیل این موضوع این است که تجزیه خوشه‌ای بر اساس ۱۰۰٪ اطلاعات حاصل از نشانگرها صورت گرفته در حالی که برای تجزیه به مختصات اصلی گروهبندی بر اساس ۳۶/۴۶ صورت گرفته است بنابراین انتظار نمی‌رود که با یکدیگر تطابق کامل داشته باشند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]



شکل ۴- نمودرا دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی ژنوتیپ‌های جو وحشی *H. Spontaneum*
Figure 4. Two-dimensional graph analysis of the main coordinates of wild barley genotypes of *H. Spontaneum*

تغییرات ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی می‌تواند به‌وسیله مکانیسم‌های مختلف از قبیل جهش، نوترکیبی ژنتیکی، مهاجرت، جریان ژنی، رانده‌شدگی ژنتیکی و گزینش به وجود آید. از آنجا که تنوع مبنای گزینش است، می‌توان این تنوع را در گیاهان وحشی جستجو کرد. با استفاده از نشانگر EST-SSR همانطور که مشاهده شد تنوع قابل ملاحظه‌ای در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی وجود داشت با توجه به اطلاعات بدست آمده از آغازگرها، در مجموع پیشنهاد می‌گردد با توجه به شاخص‌های محاسبه شده از آغازگرهای GBM1221، GBM1461 و SCSSR04163 که میزان بالایی از چند شکلی را نشان دادند، برای آنالیز مجموعه ژرم پلاسم‌های جو در تحقیقات بعدی استفاده گردد. بیشترین فاصله را ژنوتیپ‌های رومشکان-لرستان با بانه-کردستان (۰/۸۰۷) داشتند که از نظر فاصله جغرافیایی نیز فاصله دوری با یکدیگر دارند. هیبریداسیون بین جمعیت‌ها با فاصله ژنتیکی زیاد می‌تواند یک روش مناسب برای برنامه‌های اصلاحی در این گیاه باشد. از آنجایی که نشانگر مولکولی EST-SSR تنوع را براساس مناطق ژنی نشان می‌دهد، استفاده از نتایج این تحقیق برای تلاقی نمونه‌های با فواصل زیاد ژنتیکی در جهت هتروزیس به‌منظور پروژه‌های اصلاحی استفاده نمود. خویشاوندان وحشی، دامنه پراکنش وسیعی داشته و از صفات منحصر به فرد و مطلوبی برخوردار می‌باشند، از این رو شناسایی این تنوع، ارزیابی خصوصیات کمی و کیفی این ذخایر توارثی و بررسی آنها از لحاظ مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده در به کارگیری برنامه‌های اصلاحی نقش ارزشمندی دارد. با توجه به اینکه گونه وحشی (*H. spontaneum*) با گونه زراعی تلاقی پذیر بوده راه حلی مناسب برای انتقال ژن‌های مطلوب است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) با شماره گرنت ۹۸۰۱۳۹۴۳ انجام شده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

منابع

1. Altıntas, S., F. Toklu, S. Kafkas, B. Kilian, A. Brandolini and H.O. Zkan. 2008. Estimating Genetic Diversity in Durum and Bread Wheat Cultivars from Turkey Using AFLP and SAMPL Markers. Plant Breeding, 127: 9-14.
2. Anonymous. 2005. Barley Cultivation in Iran. Ministry of Jihade-e-Agriculture Publications. Tehran, Iran (In Persian).
3. Arya, L., M. Verma, S.K. Singh and R.P.S. Verma. 2019. Spatio-temporal genetic diversity in Indian barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties based on SSR markers. Indian Journal of Experimental Biology (IJEB), 57: 545-552.
4. Babaian Jolodar, N.A., N. Mori and C. Nakamora. 2005. Transferability of hexaploid wheat (*Triticum Aestivum*) microsatellite markers to hexaploid and tetraploid wheat species Iranian. Journal of Agriculture, 3: 219-227.
5. Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. The American Journal of Human Genetics, 32: 314-331.
6. Boyle, T. 2000. Criteria and indicators for the conservation of genetic diversity. In: Young A, Boshier D, Boyle T (Eds.) Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO) Publishing, Victoria, Australia, 239-250.
7. Chai, L., M. K. Biswas, H. Yi, W. Guo and X. Deng. 2013. Transferability, olymorphism and effectiveness for genetic mapping of the Pummelo (Citrus grandis Osbeck) EST-SSR markers. Scientia Horticulturae, 155: 85-91.
8. Ebrahimi, A., M. Naqvi, M. Sabokdast and M, Mardi. 2010. Evaluation of genetic diversity in samples of two species of barley H. vulgare and *H. spontaneum* L. using microsatellite markers. Iranian Journal of Crop Sciences, 12(3): 333-48 (In Persian).
9. Feizi, M., M. Solouki, B. Sadeghzadeh, B. Fakheri and SA. Mohammadi. 2019. QTL Mapping for Higher Seed Zn Concentration and Content in Baley using SSR Markers. Journal of Crop Breeding, 11(30): 67-58 (In Persian).
10. Ganjkhanlu, A., M. Moghadam, S.A. Mohammadi, M. Shiba, K. Ghasemi Golazani and A. Yousefi. 2012. Study of atmospheric genetic diversity using microsatellite markers and correlation analysis for frost tolerance traits. Journal of Seedlings and Seeds, 28(1): 101-114 (In Persian).
11. Gong, X., S. Westcott, C. Li, G. Yan, R. Lance and D. Sun. 2009. Comparative analysis of genetic diversity between Qinghai-Tibetan wild and Chinese landrace barley., Genome 52: 849-861
12. Grant, V. 1991. The Evolutionary Process: A critical Study of Evolutionary Theory. Columbia University Press, NewYork.
13. Grime, J. 2002. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. Journal of Ecology, 86: 902-910.
14. Haj Mansour, Sh., M. Bi Hemmat, A.S. Nabipour, M. Abdullah, S.M. Mohammadi and H. Nikkhah. 2010. Study of genetic diversity in barley genotypes : II. Microsatellite markers and morphological traits. Journal of Seedlings and Seeds, 26(2): 150-171 (In Persian).
15. Hasan, M., N. Odat, I. Qrunfleh, Y. Shakhatreh and S. Saifan. 2018. Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Jordanian barley (*Hordeum vulgare* L.) reveals genetic polymorphism and divergence associated with inflorescence type. Research on Crops. 19: 86-96.
16. Hayes, P.M., A. Castro, L. Marquez-Cedillo, A. Corey, C. Henson, B.L. Jones, J. Kling, D. Mather, I. Matus, C. Rossi and K. Sato. 2003. Genetic diversity for quantitatively inherited agronomic and malting quality traits. In R. Von Bothmer et al. (Ed.) Diversity in barley (*Hordeum vulgare*). Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 300 p.
17. Hou, Y., Z. Yan and Y. Wei. 2005. Genetic diversity in barely from west China based on RAPD and ISSR analysis Barely. Genetics Newsletter, 35: 9-22.
18. Ithadpour., M, M. Fattahi Moghaddam and Z. Zamani. 2012. Investigation of genetic diversity of wild and commercial plum specimens using SSR molecular marker. Horticultural Sciences of Iran, 43(2): 199-210 (In Persian).
19. Jugran, A.K., I.D. Bhatt, R.S. Rawal, S.K. Nandia and V. Pande. 2013. Atterns of morphological and genetic diversity of Valeriana jatamansi Jones in different habitats and altitudinal range of West Himalaya, India. Flora, 208: 13-21.
20. Karamzadeh, F. 2019. Genetic Diversity of Reversible Crossbreeding Families from Molecular and Wild Crossbreeding with Molecular Markers, M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, 90 p (In Persian).
21. Kumar, A., P. Mishra, S.C. Singh and V. Sundaresan. 2013. Efficiency of ISSR and RAPD markers in genetic divergence analysis and conservation management of *Justicia adhatoda* L., a medicinal plant. Plant. System Evol, 300: 1409-1420.
22. Kumar, M., G.P. Mishra, R. Singh, J. Kumar, P.K. Naik and Sh.B. Singh. 2009. Correspondence of ISSR and RAPD Markers for Comparative Analysis of Genetic Diversity among Different Apricot Genotypes from Cold Arid Deserts of Trans-Himalayas.physiology and Molecular Biology of Plants, 15(3): 225-236.
23. Low, A., S. Harris and P. Ashton. 2004. *Ecological genetics: design, analysis and Application*. Black-Well Publishing. Oxford.
24. Manifesto, M.M., A.S. Schlatter, H.E. Hopp, E.Y. Suarez and J. Dubcovky. 2001. Quantitative evaluation of genetic diversity germplasm using molecular markers. Crop Science, 41: 682-690.
25. Matus, I.A. and P.M. Hayes. 2002. Genetic diversity in three groups of barley germplasms assessed by simple sequence repeats. Genome, 45: 1095-1106.
26. Mohammadi, S.A. and B.M. Prasanna. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. Crop Science, 43: 1235-1248.
27. Morrel, P.L. 2011. Hordeum. pp. 309-320, *In*: C. Kole (Ed.), Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources,

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

28. Nam Avar, A., Z. Tahmasebi, A. Moghaddam, F. Fatehi, Z. Yousefi and B. Zaraei. 2016. Investigation of genetic diversity of a sample of wild barley germplasm (*Hordeum spontaneum*) using SSR molecular marker. Cereal Research, 6(2): 202-214 (In Persian).
29. Nandakumar, N., A.K. Singh, R.K. Sharma, T. Mohapatra, K.V. Prabhu and F.U. Zaman. 2004. Molecular fingerprinting of hybrids and assessment of genetic purity of hybrid seeds in rice using microsatellite markers. Euphytica, 136: 257-264.
30. Nevo, E. and G. Chen. 2011. Drought and salt tolerances in wild relatives for wheat and barley improvement. Plant, Cell and Environment, 33: 670-685.
31. Ozkan, H., S. Kafkas, M.S. Ozer and A. Brandolini. 2005. Genetic relationships among South-East Turkey wild barley populations and sampling strategies of *Hordeum spontaneum*. Theoretical and Applied Genetics, 112: 12-20.
32. Pazouki, L., M. Mardi, P. Salehi Shanjani, M. Hagidimitriou, S.M. Pirseyedi, M.R. Naghavi, D. Avanzato, E. Vendramin, S. Kafkas, B. Ghareyazie, M.R. Ghaffari and S.M. Khayam Nekoui. 2010. Genetic diversity and relationships among Pistacia species and cultivars. Conservation Genetics, 11: 311-318.
33. Poczai, P., I. Varga, M. Laos, A. Cseh, N. Bell, J.P. Valkonen and J. Hyvonen. 2013. Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. Plant Methods, 9(1): 6.
34. Powell, W., M. Morgante, C. Ander, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingy and A. Rafalaski. 1996. The comparision of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) marker for germplasm analysis. Molecular breeding, 2: 225-238.
35. Raggi, L., E. Bitocchi, L. Russi, G. Marconi, T.F. Sharbel, F. Veronesi and E. Albertini. 2015. Understanding genetic diversity and population structure of a Poa pratensis worldwide collection through morphological, Nuclear and Chloroplast Diversity Analysis. Public Library of Science (PLoS One), 10: e0124709
36. Ren, N. and M.P. Timko. 2001. AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild Nicotiana species. Genome, 44(4): 559-571.
37. Roder, M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.H. Tixier, P. Leroy, and M.W. Ganal. 1998. A microsatellite map of wheat. Genetics 149: 2007-2023.
38. Salehi Shanjani, P., M. Mardi, L. Pazouki, M. Hagidimitriou, D. Avanzato, S. M. Pirseyedi, M. R. Ghaffari and S. M. Khayam Nekoui. 2009. Analysis of the molecular variation between and within cultivated and wild Pistacia species using AFLPs. Tree Genetics and Genomes, 5: 447-458.
39. Salem, K.F.M., R.K. Varshney, M.S. Roder and A. Borner. 2010. EST-SSR based estimates on functional genetic variation in barley (*Hordeum vulgare* L.) collection from Egypt. Genetic Resources and Crop Evolution, 57: 515-521.
40. Satya, P., M. Karan, S. Jana, S. Mitra, A. Sharma, P.G. Karmakar and D.P. Ray. 2015. Start codon targeted (SCoT) polymorphism reveals genetic diversity in wild and domesticated populations of ramie (*Boehmeria nivea L. Gaudich.*), a premiumtextile fiber producing species. Meta gene, 3: 62- 70.
41. Shakhatreh, Y., N. Haddad, M. Alrababah, S. Grando and S. Ceccarelli. 2009. Phenotypic diversity in wild barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *spontaneum* (C. Koch) Thell.) accessions collected in Jordan. Genetic Resources and Crop Evolution, 57:131-146.
42. Shamsifar. S., R. Mirfakhraie and K. Haghpanah. 2021. Study on Genetic Diversity of some Barley (Hordeum vulgare L.) Cultivars Using SSR Marker and Physiological Traits, Froctun and Ion Leakage under Late Spring Cold Stress. Journal of Crop Breeding, 12(34): 199-209 (In Persian).
43. Torres, AM., N.F. Weeden and A. Martin. 1993. Linkage among isozyme, RFLP and RAPD markers in *Vicia faba*. Theoretical and Applied Genetics, 85: 935-945.
44. Trindade, H., I. Sena, S. Goncalves and A. Romano. 2012. Genetic diversity of wild populations of Tuberaria major (Cistaceae), an endangered species endemic to the Algarve region (Portugal), using ISSR markers. Biochemical Systematics and Ecology, 45: 49-56.
45. Varshney, R.K., P. Langridge and A. Graner. 2007. Application of genomics for molecular breeding of wheat and barley. Advances in Genetics, 58: 122-155.
46. Wang, H.Y., Y.M. Wei, Z.H. Yan and Y.L. Zheng. 2007. EST-SSR DNA polymorphism in durum wheat (*Triticum durum L.*) collections. Journal of Applied Genetics, 48: 35-42.
47. Wang, P., L. Yang, E. Zhang, Z. Qin, H. Wang, Y. Liao, X. Wang and L. Gao. 2017. Characterization and development of EST-SSR markers from a cold-stressed transcriptome of centipede grass by Illumina paired-end sequencing. Plant Mol. Biol. Rep. 35: 215-223.
48. Weir, S. 1990. Genetic data analysis: Methods for Discrete Population Genetic data. Sunderland, Sinauer Associates. Inc. Publishers, Massachusetts.
49. White, T.L., W.T. Adams and D.B. Neale, Forest Genetics, CABI Publishing, Cambridge, Massachusetts, USA 702 p, 2007.
50. Xu, Y., 2010. Molecular Plant Breeding. Cabi Publishing. Wallingford, Oxford shire, Cambridge, UK
51. Ya-ming, G., X.U. Sheng-chun, M. Wei-hua, L. Ze-yun, H. Qizan, Z. Gu-wen and D. Ju. 2011. Genetic Diversity Analysis of Faba Bean (*Vicia fabaL.*) Based on EST-SSR Markers. Agricultural Sciences in China, 10: 838-844.
52. Zhang, M., W. Mao, G. Zhang and F. Wu. 2014. Development and characterization of polymorphic EST-SSR and genomic SSR markers for Tibetan annual wild barley. PLoS One, 9: 1-10.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]

Evaluation of Genetic Diversity of *H. Spontaneum* wild Barley Populations using EST-SSR Molecular Marker

Hooman Shirvani[1], Ali Ashraf Mehrabi[2], Mohsen Farshadfar[3], Hooshmand Safari[4], Ali Arminian[5] and Foad Fatehi[2]

1- PhD Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Iran
2- Associate Professor of Biotechnology, Forests and Rangelands Research Organization, Tehran Agricultural and Natural Resources Research and Training Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran, (corresponding author: a.mehrabi@rifr-ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran
4- Assistant Professor of Forests and Rangelands Research Department, Agricultural Research and Training Center and Kermanshah Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Kermanshah, Iran
5- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Iran
Received: 18 May, 2022 Accepted: 3July, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: The genetic diversity of wild species associated with the early barley gene pool is crucial for exploitation in breeding programs. Barley (*H. vulgar*) and its ancestor (*H. spontaneum*) are excellent and economical model systems for genetic research, exploration and exploitation. In the study of the genetic diversity of 114 native barley populations collected from the west of the country, the EST-SSR molecular marker has been used to aim at the degree of genetic diversity of these native genotypes and evaluate the efficiency of these native genotypes and evaluate Is. There is genetic diversity in genotypes.

Material and Methods: First, seeds were cultured in pots for DNA extraction. DNA extraction was performed by modified CTAB method for each genotype. Polymerase chain reaction (PCR) was performed in a volume of 20 µl. The PCR product was injected in 4% agarose gel with 1% TBE reaction buffer and Safe View dye to show the strips. In order to perform statistical analysis, the data were prepared in the form of a matrix and the parameters related to primers and populations were evaluated.

Results: The number of amplified alleles varied from 2 to 4 alleles for markers and the studied primers reproduced a total of 40 alleles in the studied genotypes with an average of 2.85 per marker. The average percentage of polymorphisms for the studied primers was 96.42%. The content of polymorphic information (PIC) ranged from 0.397 to 0.189. The results showed that there is the highest level of diversity in the populations of Lorestan province and the lowest level of diversity in the populations of Kurdistan province. The dendrogram obtained from the cluster analysis of genotypes was divided into 14 groups, which according to the grouping of genetic diversity were partially adapted to the geographical distribution. Also, the results of the analysis to the original coordinates were somewhat consistent with the cluster analysis.

Conclusion: The results showed that there was good diversity among the studied populations. Also, suitable polymorphisms were observed among the primers. The primers GBM1221 with 3 alleles, GBM1461 with 3 alleles and SCSSR04163 with 4 alleles, which had the best polymorphism, are introduced as superior primers for use in future atmospheric research. The presence of high genetic diversity in natural populations of *H. spontaneum* wild barley indicates that the germplasm of this plant can be preserved in natural habitats. This diversity is also a valuable resource for identifying molecular markers informative for different phenotypic traits.

Keywords: Diversity, Genetic structure, Molecular markers, Wild Barley

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.15.45.33]