



دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی

تحقیقات غلات

دوره ششم / شماره چهارم / زمستان ۱۳۹۵ (۵۴۴-۵۳۳)

بررسی تنوع ژنتیکی تعدادی از ژنوتیپ‌های زراعی و وحشی جو با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP

معصومه حسینی^۱، مه‌لقا قربانلی^۲، حسین صبوری^{۳*}، احمدرضا دادرسی^۴، علی ستاریان^۵ و حسین‌علی فلاحی^۶

تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱۶

چکیده

در این مطالعه، از نشانگرهای مولکولی AFLP برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ۲۴ ژنوتیپ جو استفاده شد. هشت ترکیب آغازگری *EcoRI/TruII*، در مجموع ۳۳۲ نوار قابل امتیازدهی ایجاد کردند که ۲۹۲ عدد (۸۹/۱۵ درصد) از آن‌ها چند شکل بودند. تنوع ژنتیکی محاسبه شده با روش نی در محدوده ۰/۳۸-۰/۲۹ بود. شباهت ژنتیکی ژنوتیپ‌ها نیز بین ۰/۲۰ تا ۰/۵۶ متغیر بود. بیشترین و کمترین درصد چندشکلی به ترتیب در ترکیب‌های آغازگری *EcoRI+ACG - TruII+CGA* (۰/۴۷ درصد) و *EcoRI+ACT - TruII+CCG* (۰/۲۶ درصد) به دست آمد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه اصلی تقسیم کرد. در گروه‌های اول و دوم ژنوتیپ‌های شش‌ردیفه و در گروه‌های سوم و چهارم ترکیبی از ژنوتیپ‌های شش‌ردیفه و دوردیفه قرار گرفتند. بر اساس ماتریس ضرایب شباهت، کمترین فاصله ژنتیکی بین رقم نیمروز و ژنوتیپ جمعیتی خراسان‌رضوی و نیز بین نمونه جمعیتی TN2173 کرج و لاین EB-86-3 مشاهده شد. ژنوتیپ جمعیتی تیل‌آباد و تلاقی (F1) ALISOS/CI03909-2 نیز بیشترین فاصله ژنتیکی را نشان دادند. با توجه به مشاهده میزان بالای چندشکلی در بین ژنوتیپ‌های مطالعه شده در این تحقیق می‌توان از نشانگر AFLP و به‌ویژه ترکیب آغازگری *EcoRI+ACG - TruII+CGA* که درصد چندشکلی بالاتری را تولید کرد، به‌عنوان یک ابزار توانمند در تمایز ژنوتیپ‌های نزدیک و سایر برنامه‌های اصلاحی جو استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، تنوع ژنی نئی، شاخص شانون، محتوای اطلاعات چندشکل

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
- ۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
- ۳- دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- ۴- دانش‌آموخته دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران
- ۵- استادیار، گروه منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
- ۶- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

* نویسنده مسئول: hos.sabouri@gmail.com

مقدمه

محدود بودن تعداد و تأثیر عوامل محیطی و مراحل رشدی گیاه بر نشانگرهای مورفولوژیک و بیوشیمیایی، امروزه از نشانگرهای مولکولی به عنوان ابزارهای کارآمد و مکمل برای تعیین سطح تنوع و تعیین روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های گیاهی استفاده می‌شود (Mohmmadi and Prasanna, 2003; Zhnang *et al.*, 2009). یکی از کاربردهای اصلی نشانگرهای مولکولی، بررسی و برآورد سطح خویشاوندی در مجموعه‌های ژرم‌پلاسما و جمعیت‌ها برای استفاده بهینه از آن‌ها در مطالعات ژنتیکی و اصلاح گیاهان است، به طوری که در بررسی تنوع و تعیین قرابت ژنتیکی بین نمونه‌های مختلف گیاهی به وفور از آن‌ها استفاده شده است (Ahkami *et al.*, 2007; Behera *et al.*, 2008; Khalighi, *et al.*, 2008; Shyamamma, *et al.*, 2008). نشانگرهای مولکولی DNA به عنوان ابزاری مفید نه فقط برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسما، بلکه برای مکان‌یابی ژن‌های مقاومت به بیماری، تنش‌های محیطی و ترسیم نقشه ژنتیکی و نیز رابطه بین اجداد وحشی و ارقام اصلاح شده در گیاهان استفاده می‌شوند. نشانگرهای مولکولی مثل AFLP، STS، RFLP و SSR به عنوان قوی‌ترین تکنیک‌های دسترسی به تنوع ژنتیکی، انجام نقشه‌برداری ژنتیکی و شناسایی وابسته‌های مختلف هستند (Bahrman *et al.*, 1999). از بین این نشانگرها، نشانگر AFLP یکی از نشانگرهای مهم است که از نظر تولید نوارهای چندشکل و انجام‌پذیری در گونه‌های مختلف موجودات زنده حائز اهمیت می‌باشد. از ویژگی‌های روش AFLP که آن را به ابزاری قدرتمند مبدل ساخته است، عدم نیاز آن به اطلاعات اولیه در مورد ژنوم مورد مطالعه و نیز سرعت و درجه اطمینان بالای آن است (Farsi and Zulali, 2003).

در مورد گیاه جو از نشانگر AFLP در پژوهش‌های متعددی استفاده شده است. سیدطباطبایی و شاه‌نجات بوشهری (Sayed Tabatabaei and Shahnejat Boushehri, 2003) از ۱۷۱ نوار چندشکل حاصل از نشانگرهای AFLP در ترسیم نقشه ژنتیکی ارقام ژاپنی جو استفاده کردند. صغیر و همکاران (Saghir *et al.*, 2007) با جمع‌آوری نمونه‌های وحشی جو از گونه‌های *H. spontaneum* C. Koch از مناطق خاصی در شمال اردن به بررسی تنوع مولکولی نمونه‌های جو جمع‌آوری شده با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP و RAPD

جو از مهم‌ترین غلات جهان می‌باشد که سابقه هزاران ساله دارد (Majnon-Hosseini, 1997). وایلف سه مرکز جغرافیایی شرق آسیا، خاور نزدیک و آفریقا را به عنوان مبدأ اولیه جو ذکر کرد. جو متعلق به خانواده Poaceae، جنس *Hordeum* و گونه *vulgare* یا *sativum* می‌باشد. جنس *Hordeum* شامل ۳۲ گونه و ۴۵ تاکسون است و دارای انواع زراعی و وحشی می‌باشد (Von Bothmer *et al.*, 1995). جنس *Hordeum* دارای گونه‌های متعددی است که شامل گونه‌های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید با تعداد کروموزم پایه هفت ($x=7$) می‌باشد. جو زراعی به طور وسیع مورد مطالعه قرار گرفته است و گونه‌های زراعی جو عموماً دیپلوئید هستند و چهار فرم زراعی آن به زیرگونه‌های ولگار (*vulgare*)، دیستیکوم (*distichum*)، هگزاتیکوم (*hexaticum*) و ژوکریتون (*zeocriton*) و فرم وحشی آن به زیرگونه اسپانتانیوم (*spontaneum*) معروف هستند. جو با آب و هوای سرد و مرطوب سازگاری بهتری دارد، ولی در مقابل دمای زیاد و رطوبت کم نیز به خوبی مقاومت می‌کند و بیشتر در اروپا، مدیترانه و آسیای غربی یافت می‌شود. اهمیت جو به سازگاری و کاربرد بسیار متغیر و مصارف بسیار زیاد آن در تغذیه انسان و دام مربوط می‌شود (Majnon-Hosseini, 1997).

مطالعه تنوع ژنتیکی فرایندی است که در آن تفاوت‌ها یا شباهت‌های گونه‌ها، جمعیت‌ها و یا افراد با استفاده از روش‌ها و مدل‌های آماری ویژه بر اساس صفات مورفولوژیک، اطلاعات شجره‌ای یا ویژگی‌های مولکولی افراد بررسی می‌شود (Mohammadi and Prasanna, 2003). تنوع ژنتیکی به عنوان مهم‌ترین عامل بقاء موجودات در برابر تغییرات محیطی و آفات است. از این رو آگاهی از میزان تنوع ذخایر توارثی و روابط ژنتیکی بین آن‌ها یکی از نیازهای اولیه اصلاح گونه‌های گیاهی است (Abdmishani and Shahnejat-Boushehri 1992; Ahkami *et al.*, 2007; Behera *et al.*, 2008). از سوی دیگر، تنوع ژنتیکی یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها جهت انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی گیاهان می‌باشد (Fareghi *et al.*, 2007) و وجود تنوع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی به عنوان یک برتری تلقی می‌شود (Ghannadha *et al.*, 2003).

از نشانگرهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و نیز نشانگرهای مولکولی در گیاهان مختلف برای بررسی تنوع و تعیین روابط ژنتیکی افراد استفاده شده است، ولی به علت

پرداختند. نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل توجهی در درون و به‌ویژه در بین جمعیت‌ها وجود دارد.

در بررسی تنوع ژنتیکی، از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به‌عنوان تجزیه‌های آماری مفیدی به‌منظور گروه‌بندی افراد و جمعیت‌ها استفاده شده است. پورمحمد و همکاران (Pourmohammad *et al.*, 2010) بیست لاین جو بدون پوشینه را با استفاده از ۸۵ آغازگر ده نوکلئوتیدی نشانگر RAPD بررسی کردند که ۳۵ آغازگر تصادفی (۴۱ درصد) چندشکلی مطلوبی را نشان دادند. در این مطالعه تجزیه خوشه‌ای به روش دورترین همسایه‌ها و بر اساس ضریب جاکارد، لاین‌ها را به سه گروه مجزا دسته‌بندی کرد. بررسی دقیق‌تر نشان داد نمونه‌های با شجره مشابه غالباً در یک خوشه قرار گرفتند. همچنین در تجزیه مؤلفه‌های اصلی، پنج مؤلفه اول مجموعاً ۴۲/۵۸ درصد تغییرات داده‌ها را توجیه کردند که حاکی از پراکنش خوب نشانگرهای مورد استفاده در ژنوم جو بدون پوشینه بود.

با توجه به اهمیت تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف جو و مصارف بسیار زیاد آن در تغذیه انسان و دام، این تحقیق به‌منظور تعیین میزان تنوع ژنتیکی نمونه‌های مختلف جو با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی میزان قرابت ژنتیکی ۲۴ ژنوتیپ جو شامل ۱۷ ژنوتیپ زراعی *H. vulgare* و هفت ژنوتیپ وحشی متعلق به دو گونه *H. spontaneum* و *H. bulbosum* که از مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان تهیه شده بود (جدول ۱) از نشانگر مولکولی AFLP استفاده شد. ژنوتیپ‌های مورد بررسی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در آبان‌ماه ۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گنبد کاووس کشت شدند که از آنها برای تهیه نمونه برگ و استخراج DNA استفاده شد. استخراج DNA به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1994) انجام شد. روش AFLP نیز مطابق روش وس و همکاران (Vos *et al.*, 1995) با اندکی تغییر به شرح زیر اجرا شد. حدود ۵۰۰ نانوگرم DNA ژنومی به کمک ۵ واحد از هر کدام از آنزیم‌های برشی *Tru1I* و *EcoRI* مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. سپس سازگارهای مربوط به آنزیم‌های برشی *Tru1I* و *EcoRI* به انتهای قطعات برش‌خورده ژنومی اتصال یافتند. سازگار ساز آنزیم برشی *EcoRI* از ترکیب دو آغازگر 5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3' و

3'-CATCTGACGCATGGTTAA-5' و سازگار ساز آنزیم برشی *Tru1I* از ترکیب آغازگر 5'-GACGATGAGTCCTGAG-3' و آغازگر 3'-TACTCAGGACTCAT-5' تشکیل شده بود. مرحله تکثیر پیش‌انتخابی با استفاده از آغازگرهایی با یک نوکلئوتید اضافی در انتهای توالی آنزیم‌های برشی *EcoRI*: 5'-GACTGCGTACCAATTCA-3' و *Tru1I*: 5'-GATGAGTCCTGAGTAAC-3' انجام شد. انگشت‌نگاری AFLP با استفاده از آغازگرهایی با سه نوکلئوتید اضافی در انتهای 5' آغازگرها صورت گرفت. هشت ترکیب بر اساس چهار توالی برای آغازگر انتخابی مرتبط با *EcoRI* (*EcoRI*+ACT, *EcoRI*+ACG), *EcoRI*+AGC و *EcoRI*+AAC) و دو توالی برای آغازگر انتخابی مرتبط با *Tru1I* (*Tru1I*+CCG) انجام شد. برای مشاهده الگوی نواری نواری محصولات PCR از ژل پلی‌آکرلامید ۶ درصد واسرشته‌ساز استفاده شد. الکتروفورز به مدت دو ساعت با بافر TBE IX و ولتاژ ۱۲۰۰ ولت انجام شد و رنگ‌آمیزی ژل نیز به روش نیترات نقره (Bassam *et al.*, 1991) صورت گرفت.

جهت ثبت داده‌ها، هر جایگاه تکثیرشده توسط هر ترکیب آغازگر به‌عنوان یک نشانگر در نظر گرفته شد و حضور یا عدم حضور آن به‌ترتیب با اعداد یک و صفر نشان داده شد. برای بررسی قدرت تفکیک نشانگرها، محتوای اطلاعات چندشکل (PIC: Polymorphic Information Content) هر نشانگر با رابطه $PIC_i = 2 \sum_{j=1}^i P_j(1-P_j)$ محاسبه شد که در آن P_i فراوانی آلل i می‌باشد. همچنین آماره‌های ژنتیکی شامل تنوع ژنتیکی نی (Nei)، شاخص تنوع شانون (I)، متوسط تعداد آلل مؤثر در هر مکان ژنی (Ne) و تعداد آلل مشاهده شده در هر مکان ژنی (Na) با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh, 1997) محاسبه شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس معیارها و روش‌های مختلف توسط نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 (Rohlf, 1998) انجام شد و در نهایت با مقایسه ضریب همبستگی کوفنتیک و شمای دندروگرام‌های مختلف، گروه‌بندی بر اساس ضریب تشابه جاکارد (Jaccard, 1908) و روش UPGMA مورد تفسیر قرار گرفت. همچنین با توجه به وجود سه جمعیت مختلف جو شامل *H. spontaneum*، *H. vulgare* و *H. bulbosum* تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx 6.5 انجام شد.

جدول ۱- اطلاعات ژنوتیپ‌های جو مورد بررسی در این تحقیق

Table 1. Information of the barley genotypes studied in this research

شماره No.	ژنوتیپ Genotype	شجره یا شماره بانک ژن Pedigree or gene bank number	موقعیت، محل جمع‌آوری یا تهیه Location, collection site or preparation	آرایش سنبله Ordination spike	جنس و گونه Genus and species
G1	Yousef رقم یوسف	-	مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G2	Izeh رقم ایذه	-	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G3	Line EM81-12	Comp 89-9Cr-79- 07/Atem//(Alpha/HC1905 //Robur)/3/	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G4	Line EC83-4	L.131/Gerbel//Ager- Ceres/3/(Scotia/Wa...)	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G5	Nimrouz رقم نیمروز	-	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G6	Kavir رقم کویر	-	"	دو Two	<i>H. vulgare</i>
G7	Productive رقم پروداکنیو	-	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G8	Bahman رقم بهمن	-	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G9	جمعیت مراوه‌تپه Marave Tappe	-	مراوه‌تپه	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G10	جمعیت تیل‌آباد Til Abad	-	تیل‌آباد	شش Six	<i>H. spontaneum</i>
G11	جمعیت خراسان رضوی Khorasan Razavi	-	خراسان رضوی	شش Six	<i>H. spontaneum</i>
G12	Line MB-82-12	MB-82-12	مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان	دو Two	<i>H. vulgare</i>
G13	Line EB-86-14	(Bllu/Mja)	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G14	Line EB-86-6	(Alanda/Hamra//Alanda- 01)	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G15	Line EB-86-4	(Barley/3/Aths//Md.AT1)	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G16	Line EB-86-3	(Productive//As46/Aths)	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G17	جمعیت TN2173 کرج Karaj TN2173	TN2173	موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال	دو Two	<i>H. bulbosum</i>
G18	جمعیت 76063 کرج Karaj 76063	76063	"	دو Two	<i>H. bulbosum</i>
G19	جمعیت TN49402 کرج Karaj TN49402	TN49402	"	شش Six	<i>H. spontaneum</i>
G20	جمعیت TN55502 کرج Karaj TN55502	TN55502	"	شش Six	<i>H. spontaneum</i>
G21	Line FI CC0598	COPAL/cl14230/lignee52 7/4Delo/CARDO/4/CAB UYA	مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G22	Line BF891M-584	Rojo/3/Beecher//POST/3/ ROBUST//COME/3/CIR U	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G23	ALISOS/CI03909-2 (F1)	ALISOS/CI03909-2	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>
G24	Line A1C84-14	Narcis//k-281/skorobod	"	شش Six	<i>H. vulgare</i>

نتایج و بحث

جفت باز بود. تعداد نوارهای چندشکل از تعداد ۲۶ نوار در ترکیب‌های آغازگری *EcoRI+AGC-Tru1I+CGA* و *EcoRI+AAC - Tru1I+CCG* تا تعداد ۵۵ نوار در ترکیب *EcoRI+AGC - Tru1I+CCG* متغیر بود و

هشت ترکیب آغازگری برای ۲۴ ژنوتیپ جو، مجموعاً ۳۳۲ باند قابل امتیازدهی ایجاد کردند که از این تعداد ۲۹۲ نوار چندشکل بودند. دامنه اندازه نوارها بین ۱۰۰ تا ۷۰۰

بالاترین درصد چندشکلی (۱۰۰ درصد) نیز در ترکیب‌های آغازگری $EcoRI+AGC-Tru1I+CCG$ و $EcoRI+AGC-Tru1I+CGA$ مشاهده شد. میانگین تعداد نوارهای تکثیر شده به ازای هر ترکیب آغازگری ۴۱ و میانگین تعداد نوارهای چندشکل به ازای هر ترکیب ۳۶ نوار بود. درصد چند شکلی در بین ترکیبات آغازگری در پژوهش حاضر از ۶۴ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود و میانگین درصد چندشکلی حدود ۸۹/۱۵ درصد برآورد شد. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2006) اظهار داشتند که دسترسی به درصد بالایی از چندشکلی می‌تواند ارزیابی سودمندی را در بررسی‌های مربوط به تنوع ژنتیکی حاصل نماید. بنابراین، با توجه به حصول میزان بالای چندشکلی در تحقیق حاضر می‌توان از نشانگر AFLP و به‌ویژه ترکیب‌های آغازگری که درصد چندشکلی بالاتری را تولید کردند، به‌عنوان یک ابزار توانمند در برنامه‌های اصلاحی جو استفاده کرد.

محتوای اطلاعات چند شکلی یکی از معیارهای ارزیابی قدرت تمایز نشانگرها است و به‌عنوان یک پارامتر برای نشان دادن میزان چندشکلی یک نشانگر استفاده می‌شود. هر اندازه این عدد بزرگتر باشد، بیانگر وجود تعداد آلل‌های زیاد و فراوانی زیاد چندشکلی برای جایگاه در ژنوتیپ‌های تحت مطالعه است. میزان PIC بالا در نشانگر می‌تواند در تمایز ژنوتیپ‌های با خویشاوندی نزدیک بسیار کارا باشد. در حقیقت این شاخص قدرت تفکیک یک نشانگر را بر اساس فراوانی وجود و عدم وجود نوارها در جمعیت نشان می‌دهد (Zhou, 2003). بالاترین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) با مقادیر ۰/۴۷، ۰/۴۵ و ۰/۴۴ به ترتیب متعلق به ترکیبات $EcoRI+CGA - Tru1I+CGA$ ، $EcoRI+CGA - Tru1I+CCG$ و $EcoRI+CGA - Tru1I+CGA$ بود و ترکیب آغازگری $EcoRI+ACT - Tru1I+CCG$ کمترین محتوای اطلاعات چندشکلی (۰/۲۶) را به خود اختصاص داد (جدول ۲). با توجه به اینکه برای نشانگرهای غالب بالاترین مقدار PIC اکتسابی می‌تواند ۰/۵ باشد (Mohammadi *et al.*, 2011)، از این‌رو می‌توان اظهار داشت که این ترکیبات آغازگری بتوانند ترکیبات مناسبی برای ارزیابی روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های جو به‌ویژه ژنوتیپ‌های نزدیک‌تر باشند.

معیار دیگر ارزیابی کارایی نشانگرها در تعیین چندشکلی، شاخص شانون است. بالاترین شاخص شانون برای ترکیب‌های $EcoRI + ACG - Tru1I + CGA$ و $EcoRI + AAC - Tru1I + CGA$ به ترتیب برابر با ۰/۵۶ و ۰/۵۵ و در مقابل، کمترین میزان شاخص شانون برای ترکیب‌های آغازگری $EcoRI+AGC - Tru1I+CGA$ و $EcoRI + ACT - Tru1I + CCG$ به ترتیب برابر با ۰/۴۵ و ۰/۴۶ برآورد شد. بالاترین مقادیر تنوع ژنتیکی نی و تعداد آلل مؤثر به ترتیب $EcoRI + ACG - Tru1I + CGA$ و $EcoRI + ACT - Tru1I + CCG$ و $EcoRI + ACG - Tru1I + CGA$ و $EcoRI + ACT - Tru1I + CCG$ به ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر ضریب تنوع ژنتیکی نی، تعداد آلل مؤثر، شاخص شانون و محتوای اطلاعات چندشکلی را به خود اختصاص دادند. بنابراین می‌توان از ترکیب آغازگری $EcoRI + ACG - Tru1I + CGA$ برای تمایز بین ژنوتیپ‌هایی با خویشاوندی بسیار نزدیک استفاده کرد. در پژوهش دیگری توسط محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2014) در ارتباط با بررسی تنوع ژنتیکی ۷۷ ژنوتیپ جو با استفاده از نشانگرهای AFLP، میانگین تعداد نوارهای چندشکل ۳۲/۴۴ و میانگین درصد چندشکلی ۹۲/۳۷ درصد به دست آمد که بیشتر از پژوهش حاضر بود. همچنین ترکیبات آغازگری مورد استفاده آن‌ها حاصل از دو آنزیم برشی $EcoRI$ و $MseI$ بود که در یک آنزیم متفاوت از این مطالعه بود. در مقابل، در پژوهش رحیم ملک و همکاران (Rahim Malek *et al.*, 2008) که برای بررسی ژنتیکی گندم نان از نشانگرهای AFLP و ۱۳ ترکیب آغازگری استفاده کردند، چندشکلی بسیار پایین‌تری مشاهده شد. آن‌ها در مجموع ۶۸۴ نوار به دست آوردند که از بین آن‌ها تنها ۱۱۵ نوار چندشکل بودند. بیش‌ترین و کمترین درصد چندشکلی نشانگرها به ترتیب ۳۲/۵ و ۷/۵ درصد با متوسط ۱۶/۶ درصد برآورد شد. آن‌ها بر اساس نتایج مطالعه خود اذعان داشتند که با توجه به درصد چندشکلی پایین مشاهده شده باید از نشانگرهای با سطح چندشکلی بالا برای اشباع نقشه پیوستگی در جمعیت گندم نان استفاده شود.

جدول ۲- آماره‌های تنوع ژنتیکی هشت ترکیب آغازگری بررسی شده در ژنوتیپ‌های جو

Table 2. Genetic diversity statistics for the eight primer combinations studied in barely genotypes

ترکیب آغازگری Primer combination	کل نوارها Total bands	نوارهای چندشکل Polymorphic bands	درصد چندشکلی Percentage of polymorphism	محتوای اطلاعات چندشکلی Polymorphic information content	تعداد آلل مؤثر Effective number of alleles per locus	تنوع ژنی Nei's gene diversity	شاخص شانون Shannon's index
<i>EcoRI</i> + ACG- <i>TruII</i> +CCG	59	55	93.22	0.33	1.55	0.32	0.49
<i>EcoRI</i> +ACG – <i>TruII</i> + CGA	45	37	82.22	0.47	1.66	0.38	0.56
<i>EcoRI</i> +ACT – <i>TruII</i> +CCG	50	32	64	0.27	1.47	0.29	0.46
<i>EcoRI</i> +ACT – <i>TruII</i> +CGA	44	37	84.09	0.34	1.50	0.31	0.47
<i>EcoRI</i> +AGC – <i>TruII</i> + CCG	45	45	100	0.37	1.52	0.31	0.48
<i>EcoRI</i> +AGC – <i>TruII</i> +CGA	26	26	100	0.38	1.49	0.30	0.45
<i>EcoRI</i> +AAC – <i>TruII</i> +CCG	29	26	89.66	0.45	1.53	0.32	0.49
<i>EcoRI</i> +AAC – <i>TruII</i> +CGA	34	34	100	0.44	1.62	0.37	0.55
جمع (Total)	332	292	713.19	3.04	12.34	2.6	3.96
میانگین (Average)	41	36	89.15	0.38	1.54	0.33	0.50

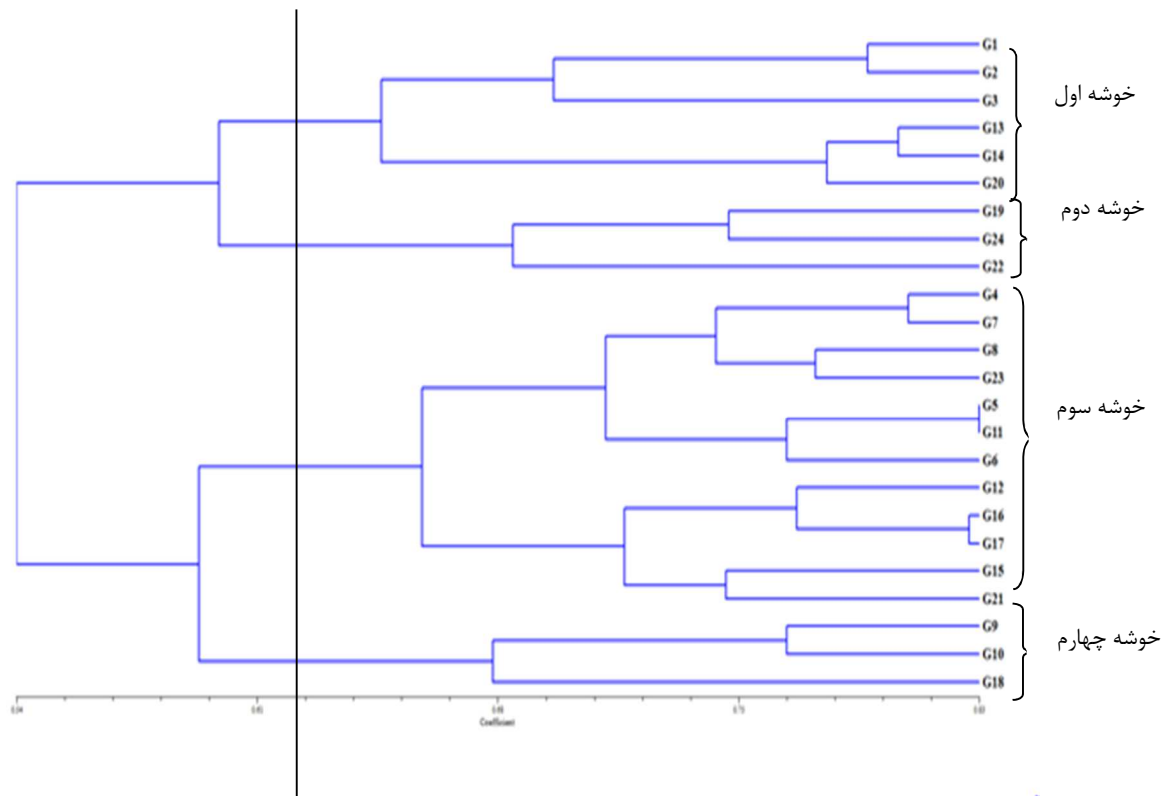
Productive، رقم بهمن، رقم نیمروز، جمعیت خراسان رضوی، رقم کویر، لاین MB-82-12، لاین EB-86-3، جمعیت TN2173 کرج، لاین EB-86-4، لاین FICCO598 و تلاقی (F1) ALISOS/CI03909-2 قرار گرفتند که در این گروه رقم نیمروز و جمعیت خراسان رضوی قرابت بسیار بالایی نشان دادند. در نهایت، خوشه چهارم نیز واجد سه ژنوتیپ شامل جمعیت مراوه‌تپه، جمعیت تیل‌آباد و جمعیت 76063 کرج بود.

در تجزیه خوشه‌ای از نظر صفات مورفولوژیک، همه ژنوتیپ‌های شش‌ردیفه و از گونه *H. vulgare* در خوشه اول گروه‌بندی شدند، به غیر از TN55502 که شش‌ردیفه اما از گونه *H. spontaneum* بود. در خوشه دوم نیز تمامی ژنوتیپ‌ها شش‌ردیفه از گونه *H. vulgare* بودند و فقط N49402 که شش‌ردیفه و از گونه *H. spontaneum* بود. در خوشه سوم، هشت ژنوتیپ شش‌ردیفه از گونه *H. vulgare* و جمعیت خراسان رضوی شش‌ردیفه از گونه *H. spontaneum* به‌همراه رقم کویر و لاین MB-82-12 دوردیفه از گونه *H. vulgare* و جمعیت TN2173 کرج دوردیفه از گونه *H. bulbosum* گروه‌بندی شدند. این خوشه از نظر آرایش سنبله‌ها و نوع گونه، کاملاً متنوع بود.

پس از انجام تجزیه خوشه‌ای با ضرایب تشابه مختلف از جمله جاکارد، تطابق ساده و دایس و نیز روش‌های مختلف گروه‌بندی از جمله UPGMA، دورترین و نزدیک‌ترین همسایه‌ها، دندروگرام‌های مختلف تهیه و مقایسه شدند. نتایج این مقایسه نشان داد که تجزیه خوشه‌ای بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد (Jaccard, 1908) با کسب بالاترین ضریب کوفتیک برابر با ۰/۸۶ مناسب‌ترین دندروگرام برای تفسیر می‌باشد (شکل ۱). این الگوریتم ۲۴ ژنوتیپ جو را در چهار خوشه گروه‌بندی کرد. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از تجزیه تابع تشخیص مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار آماره F برای زمانی که ژنوتیپ‌ها به سه و چهار گروه تقسیم شدند، معنی‌دار شد، اما با توجه به اینکه مقدار آماره برای حالت چهار گروهی بیشتر از تقسیم‌بندی سه گروهی شد، ژنوتیپ‌ها در چهار گروه مجزا گروه‌بندی و مقایسه شدند. خوشه اول واجد شش ژنوتیپ شامل رقم یوسف، لاین EM81-12، رقم ایذه، لاین EB-86-14، لاین EB-86-6 و جمعیت TN55502 کرج و خوشه دوم واجد سه ژنوتیپ شامل جمعیت TN49402 کرج، لاین BF891M-584 و لاین A1C84-14 بود. در خوشه سوم ۱۲ ژنوتیپ شامل لاین EC83-4، رقم

بودند. جمعیت TN2173 کرج با آرایش سنبله دوردیفه و از گونه *H. bulbosum* و لاین EB-86-3 با آرایش سنبله ششردیفه و از گونه *H. vulgare* هستند. آن‌ها از نظر اطلاعات مولکولی در یک گروه قرار گرفتند که ممکن است به دلیل مشترک بودن اجداد آن‌ها باشد.

در خوشه چهارم دو جمعیت مراوه تپه و تیل‌آباد ششردیفه از گونه *H. spontaneum* و جمعیت 76063 کرج دوردیفه از گونه *H. bulbosum* قرار گرفت. جمعیت TN2173 کرج و لاین EB-86-3 با فاصله ژنتیکی بسیار کم از هم از نظر صفات مورفولوژیک مانند آرایش سنبله و گونه‌ها متفاوت



شکل ۱- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های سه گونه جو (*H. bulbosum* و *H. spontaneum* و *H. vulgare*) با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA بر اساس داده‌های AFLP. اسامی ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

Figure 1. Grouping genotypes of three barely species (*H. vulgare*, *H. spontaneum* and *H. bulbosum*) Using Jaccard's similarity coefficient and UPGMA method based on AFLP data. The name of barley genotypes are shown in Table 1

ضریب دایس و الگوریتم UPGMA نمونه‌ها را به سه گروه تقسیم و مشاهده کردند که تمام خوشه‌ها شامل گونه‌های وحشی و زراعی هستند. گروه اول شامل نمونه‌هایی از هر دو گونه *H. spontaneum* و *H. vulgare* بود که از ایران جمع‌آوری شده بودند و گروه‌های دوم و سوم نیز به ترتیب شامل نمونه‌هایی از گونه‌های *H. spontaneum* و *H. vulgare* بود (Ebrahimi et al., 2010). محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2014) نیز اظهار داشتند که ژنوتیپ‌هایی که در گروه‌بندی ژنتیکی با هم قرابت نشان می‌دهند، می‌توانند از لحاظ سایر ویژگی‌ها هم مشابه باشند. نتایج آن‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های اصلاح شده جو که شامل EB-88-7, EB-88-19, EB-88-3, EB-88-10

بر اساس این تجزیه، جمعیت تیل‌آباد و تلاقی ALISOS/CI03909-2 (F1) که بیشترین فاصله ژنتیکی را از بقیه ژنوتیپ‌ها نشان دادند، از نظر صفات مورفولوژیک نیز تفاوت زیادی با یکدیگر دارند. جمعیت تیل‌آباد دارای آرایش سنبله ششردیفه و از گونه *H. spontaneum* است، در حالی که تلاقی ALISOS/CI03909-2 (F1) دارای آرایش سنبله ششردیفه اما از گونه *H. vulgare* است. نتایج مشابه‌ای در مطالعه دیگری نیز به دست آمده است. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2010) تنوع ژنتیکی ۷۳ ژنوتیپ جو ایران از دو گونه *H. vulgare* و *H. spontaneum* را با استفاده از ۱۵ جفت نشانگر ریزماهواره بررسی کردند. آن‌ها بر اساس تجزیه خوشه‌ای با استفاده از

که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در درون جمعیت‌ها وجود دارد که می‌تواند از نظر به‌نژادی مورد بهره‌برداری قرار گیرد. آماره‌های تنوع ژنتیکی به تفکیک هر جمعیت نیز در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که میزان تنوع موجود در درون سه جمعیت متفاوت از هم می‌باشد. عبدالهی و همکاران (Abdollahi et al., 2012) که با استفاده از نشانگرهای SSR به بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی و ارقام اصلاح شده جو پرداختند، بر اساس تجزیه واریانس مولکولی اظهار داشتند که در تشکیل واریانس مولکولی کل، واریانس درون گروهی درصد بیشتری (۹۰ درصد) را در مقایسه با واریانس بین گروهی (۱۰ درصد) به خود اختصاص می‌دهد. نتایج مشابه‌ای که میزان تنوع ژنتیکی مشاهده شده در درون جمعیت‌ها را بیشتر از تنوع ژنتیکی مشاهده شده در بین جمعیت‌ها گزارش کردند، در بسیاری از پژوهش‌ها از جمله در بررسی ما و همکاران (Ma et al., 2012) و محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2014) در جو نیز مشاهده شد.

EB-88-1، EB-88-5، EB-88-4، EB-87-20، EB-85-5، EB-86-3 و EB-86-4 و متعلق به اقلیم گرم بودند، پس از گروه‌بندی در یک خوشه قرار گرفتند و ژنوتیپ‌های اصلاح شده EC-81-13 و EC-82-11 نیز که از اقلیم سرد بودند، در مجاورت هم قرار گرفتند. همچنین، ارقام جنوب، شیرین و ترش متعلق به اقلیم گرم جنوب و ژنوتیپ‌های EB-88-16 و MB-82-12 متعلق به اقلیم معتدل، در نزدیکی هم قرار گرفتند. آن‌ها در نهایت ادعان داشتند که ژنوتیپ‌های منتسب به یک خوشه که از لحاظ بسیاری از ویژگی‌ها مشابه و حتی قابل توصیه به مناطق اقلیمی مشابه‌ای هستند، از لحاظ ویژگی‌های ژنومی نزدیک به هم می‌باشند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بین سه جمعیت جو (*H. spontaneum*، *H. vulgare* و *H. bulbosum*) در این تحقیق نشان داد که ۸۳ و ۱۷ درصد از تنوع ژنتیکی کل به ترتیب مربوط به درون و بین جمعیت‌ها می‌شود (جدول ۳). این نتیجه نشان می‌دهد که

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مولکولی در سه گونه جو (*H. bulbosum* و *H. spontaneum*، *H. vulgare*)

Table 3. Molecular analysis of variance (AMOVA) in three barley species (*H. vulgare*، *H. spontaneum* and *H. bulbosum*)

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of square	میانگین مربعات Mean square	نسبت مجموع مربعات بین جمعیت‌ها به کل Among the populations SS to total SS ratio
بین جمعیت‌ها Among the populations	2	205.522	102.76	0.17**
درون جمعیت‌ها Within the populations	21	1013.312	48.23	

** : Significant at 1% probability level.

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

نتیجه‌گیری کلی

که روش AFLP به‌عنوان یک ابزار سریع، قدرتمند و مؤثر، تنوع ژنتیکی مناسبی را در بین افراد یک جمعیت و بین چند جمعیت نمایان می‌سازد. در این بررسی، ژنوتیپ‌های دوردیفه متعلق به دو گونه وحشی *H. bulbosum* و *H. spontaneum* در دو خوشه مجزا قرار گرفتند. در مقابل، گونه‌های زراعی (*H. vulgare*) و وحشی (*H. spontaneum*) و ژنوتیپ‌های دوردیفه و شش‌ردیفه در گروه چهارم قرار گرفتند که حاکی از وجود نوعی قرابت ژنتیکی بین گونه‌های زراعی و وحشی بود. رقم نیمروز و جمعیت خراسان رضوی بیشترین شباهت ژنتیکی و ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از منطقه تیل‌آباد و ALISOS/CI03909-2 کمترین تشابه ژنتیکی و بیشترین

متخصصین به‌نژادی، ژرم‌پلاسم‌های گیاهی را بر اساس صفات زراعی، صفات مورفولوژیک و منشأ جغرافیایی آن‌ها طبقه‌بندی و سپس بر مبنای نتایج حاصل، استراتژی‌های مناسب را اعمال می‌کنند. آگاهی از روابط خویشاوندی گونه‌های مورد مطالعه امکان سازماندهی ژرم‌پلاسم‌ها و نمونه‌گیری مؤثر از ژنوتیپ‌ها را فراهم می‌سازد (Abdmishani and Shahnejat-Boushehri, 1992). توجه به کارایی بالای نشانگرهای مولکولی در تعیین تنوع ژنتیکی، در این بررسی تنوع ژنتیکی جو که یکی از مهم‌ترین غلات جهان به جهت اقتصادی به‌شمار می‌رود، با نشانگر مولکولی AFLP مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد

Tru1I+CGA به ترتیب با مقادیر ۰/۴۷، ۰/۴۵ و ۰/۴۴ توانستند بالاترین مقدار PIC را به خود اختصاص دهند که نشان دهنده توانمندی این ترکیبات در تمایز ژنوتیپ‌های جو می‌باشد و از این رو برای بررسی تنوع ژنتیکی موجود در خزانه ژنتیکی و گروه‌بندی ژرم‌پلاسم جو پیشنهاد می‌شوند.

فاصله یا اختلاف ژنتیکی را نشان دادند. به این ترتیب، در برنامه‌های به‌نژادی می‌توان از این دو ژنوتیپ برای انجام تلاقی و تولید نتاج دارای تنوع ژنتیکی بالا استفاده کرد. ترکیبات آغازگری *EcoRI+ACG-Tru1I+CGA* و *EcoRI+AAC-Tru1I+CCG*

جدول ۴- آماره‌های تنوع ژنتیکی هشت ترکیب آغازگری بررسی شده در سه گونه جو (*H. spontaneum*، *H. vulgare*) و (*H. bulbosum*)

Table 4. Genetic diversity statistics of the eight primer combinations in three barley species (*H.vulgare*, *H. spontaneum* and *H. bulbosum*)

گونه Species	ترکیب آغازگری Primer combination	محتوای اطلاعات چندشکلی Polymorphic information content	تعداد آلل مؤثر Effective number of allele	تنوع ژنتیکی نئی Nei's gene diversity	شاخص شانون Shannon's index
<i>H. vulgare</i>	<i>EcoRI + ACG – Tru1I+CCG</i>	0.33	1.68	0.95	0.55
	<i>EcoRI+ACG – Tru1I+ CGA</i>	0.47	1.49	0.28	0.42
	<i>EcoRI+ACT – Tru1I+CCG</i>	0.24	1.48	0.26	0.38
	<i>EcoRI+ACT – Tru1I+CGA</i>	0.35	1.52	0.29	0.42
	<i>EcoRI+AGC – Tru1I+ CCG</i>	0.31	1.59	0.31	0.45
	<i>EcoRI+AGC – Tru1I+CGA</i>	0.41	1.73	0.40	0.59
	<i>EcoRI+AAC – Tru1I+CCG</i>	0.48	1.61	0.33	0.49
	<i>EcoRI+AAC – Tru1I+CGA</i>	0.40	1.34	0.22	0.36
<i>H. spontaneum</i>	<i>EcoRI + ACG – Tru1I+CCG</i>	0.28	1.38	0.2	0.29
	<i>EcoRI+ACG – Tru1I+ CGA</i>	0.47	1.36	0.2	0.3
	<i>EcoRI+ACT – Tru1I+CCG</i>	0.29	1.33	0.18	0.26
	<i>EcoRI+ACT – Tru1I+CGA</i>	0.21	1.39	0.20	0.28
	<i>EcoRI+AGC – Tru1I+ CCG</i>	0.49	1.66	0.38	0.56
	<i>EcoRI+AGC – Tru1I+CGA</i>	0.24	1.40	0.21	0.3
	<i>EcoRI+AAC – Tru1I+CCG</i>	0.35	1.19	0.1	0.15
	<i>EcoRI+AAC – Tru1I+CGA</i>	0.42	1.64	0.36	0.54
<i>H. bulbosum</i>	<i>EcoRI + ACG – Tru1I+CCG</i>	0.19	1.08	0.048	0.07
	<i>EcoRI+ACG – Tru1I+ CGA</i>	0.48	1.28	0.16	0.24
	<i>EcoRI+ACT – Tru1I+CCG</i>	0.25	1.18	0.10	0.15
	<i>EcoRI+ACT – Tru1I+CGA</i>	0.41	1.28	0.16	0.24
	<i>EcoRI+AGC – Tru1I+ CCG</i>	0.33	1.29	0.17	0.25
	<i>EcoRI+AGC – Tru1I+CGA</i>	0.17	1.13	0.07	0.11
	<i>EcoRI+AAC – Tru1I+CCG</i>	0.28	1.09	0.05	0.08
	<i>EcoRI+AAC – Tru1I+CGA</i>	0.47	1.39	0.22	0.33

References

- Abdollahi, N., Mohammadi, S. A., Alavi Kia, S. and Sadeghzadeh, B. 2012.** Analysis of genetic diversity in barley improved and landraces using SSR. Third Iranian Agricultural Biotechnology Congress. 3-5 Sep., Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. (In Persian).
- Abdmishani, C. and Shahnejat Boushehri, A. A. 1992.** Advanced plant breeding. Vol. 2. Plant biotechnology. Tehran University Press, Tehran, Iran. (In Persian).
- Ahkami, A. M., Naghavi, M. R., Mardi, M., Hossienzadeh, A., Pirseyedi, M., Potki, P., Kazemi Alamoti, M., Hashempour, I. and Omidbakhsh, M. A. 2007.** Genetic relationship in durum wheat (*Triticum durum*) using AFLP markers. **Iranian Journal of Field Crop Research** 38: 25-35. (In Persian with English Abstract).
- Arzani, A. 2002.** Grain yield performance of durum wheat germplasm under Iranian dry-land and irrigated field conditions. **Sabrao Journal of Breeding and Genetics** 34: 9-18.
- Bahrman, N., Le Gouis, J., Hariri, D., Guilbaud, L. and Jestin, L. 1999.** Genetic diversity of old french six –rowed winter barley varieties assessed with molecular, biochemical and 60 polymorph markers and its relation to BaMMV resistance . **Heredity** 83: 568-576.
- Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G. and Gresshoff, G. M. 1991.** Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Annual Biochemistry** 84: 680-683.
- Behera, T. K., Gaikward, A. B., Singh, A. K. and Staub, J. E. 2008.** Relative efficiency of DNA markers (RAPD, ISSR and AFLP) in detecting genetic diversity of bitter melon (*Momordica charantia* L.). **The Science Food Agriculture** 88: 733-737.
- Ebrahimi, A., Naghavi, M. R., Sabokdast, M. and Mardi, M. 2010.** Assessment of genetic diversity in two accessions of barely species (*H. vulgare* L. and *H. Spontaneum* L.) using SSR markers. **Iranian Journal of Crop Sciences** 12 (3): 333-345. (In Persian with English Abstract).
- Fareghi, S. H., Farshadfar, M. and Farshadfar, E. 2007.** Studying chemical composition and nutrition value of 61 erennial Lucerne (*Medicago sativa* L.) and genetic diversity based on SDS-PAGE markers. **Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research** 15: 196-210. (In Persian with English Abstract).
- Farsi, M. and Zulali, G. 2003.** The plant biotechnology. Ferdowsi University of Mashhad Press, Mashhad, Iran. (In Persian).
- Ghannadha, M. R., Zahravi, M. and Vahdati, K. 2003.** Breeding horticultural crops. Dibagaran Tehran Press, Tehran, Iran. 344p. (In Persian).
- Jaccard, P. 1908.** Nouvelles recherches sur la distribution florale. **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles** 44: 223-270.
- Khalighi, M., Arzani, A. and Poursiahbidi, M. A. 2008.** Assessment of genetic diversity in *Triticum spp.* and *Aegilops spp.* using AFLP markers. **African Journal of Biotechnology** 7: 549-52.
- Ma, X., Sela, H., Jiao, G., Li, C., Wang, A., Pourkheirandish, M., Weiner, D., Sakuma, S., Krugman, T., Nevo, E., Komatsuda, T., Korol, A. and Chen, G. 2012.** Population-genetic analysis of HvABCG31 promoter sequence in wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. spontaneum). **BMC Evolutionary Biology** 12: 188.
- Majnon-Hosseini, N. 1997.** Cereal grain crops. Naghash Mehar Press, Tehran, Iran. (In Persian).
- 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.
- Mohammadi, S. A., Shokrpour, M., Moghaddam, M. and Javanshir, A. 2011.** AFLP-based molecular characterization and population structure analysis of *Silybum marianum* L. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization** 9 (3): 445-453.
- Mohammadi, Z., Sabouri, A., Heydari, R., Sabouri, H., Falahi, H. A., Dadras, A. and Mousanejad, S. 2014.** Investigation of population structure and genetic diversity of barley genotypes using AFLP molecular markers. **Cereal Research** 4 (2): 141-154.
- Nei, M. 1973.** Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceeding of the National Academy of Sciences USA** 70: 3321-3323.
- Pourmohammad, A., Moghaddam, M., Khosrowshahli, S. A., Mohammadi, A. and Yousefi, A. 2010.** Study of genetic diversity by RAPD markers and identification of informative markers for grain yield and its components in hullless barley genotypes. **Seed and Plant Improvement Journal** 26: 253-267. (In Persian with English Abstract).
- Rahim-Malek, M., Seyed Tabatabaei, B. A. and Mohammadi, S. A. 2008.** Saturating microsatellite linkage map of wheat in Fukuho-Komugi × Oligo-Culm cross population using AFLP marker.

- Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources** 12 (43): 567-575. (In Persian with English Abstract).
- Rohlf, J. F. 1998.** NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system (ver. 2.0). User Guide. Applied Biostatistics INC. New York.
- Saghir, M. G., Malkawi, H. I. and Oqlah, A. E. 2007.** Genetic diversity in *Hordeum spontaneum* cv. Koch of Northern Jordan (Ajloun Area) as revealed by RAPD and AFLP markers. **International Journal of Botany** 3: 172-178.
- Saghai-Marouf, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. and Allard, R. W. 1994.** Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley species diversity, chromosomal location, and population dynamics. **Proceeding of the National Academy of Sciences, USA** 91: 5466-5570.
- Seyed Tabatabaei, B. A. and Shahnejat Boushehri, A. A. 2003.** Genetic map based on AFLP markers. **Iranian Journal of Agricultural Sciences** 34 (1): 9-18. (In Persian with English Abstract).
- Shyamamma, S., Chandra, S. B. C., Hegde, M. and Naryanswamy, P. 2008.** Evaluation of genetic diversity in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) based on 63 amplified fragment length polymorphism markers. **Genetics and Molecular Research** 7: 645-656.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Paleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995.** AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research** 23: 4407-4414.
- Von Bothmer, R., Jacobsen, N., Baden, C., Jorgensen, R. B. and Linde-Laursen, I. 1995.** An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Gene Pools 7. 2nd edition. IPGRI, Rome. 129 p.
- Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T., 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.
- Zhang, H. Y., Liu, X. Z., Li, T. S. and Yang, Y. M. 2006.** Genetic diversity among flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) revealed by amplified fragment length polymorphism. **Botanical Studies** 47: 223-229.
- Zhnang, J. V., Yang, X. H., Yu Ya, X., He, Z., Wei, Z., Lide, Y. and Zhao, H. S. 2009.** Study on genetic relationship of Yunnan Naked barley by SSR markers. **Journal of Triticeae Crops** 1: 70-80.
- Zhou, J. K. 2003.** Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology** 6: 441-445.



University of Guilan
Faculty of Agricultural
Sciences

Cereal Research
Vol. 6, No. 4, Winter 2017 (533-544)

Investigating the genetic diversity in some of cultivated and wild barely genotypes using AFLP molecular markers

**Masomeh Hosseini¹, Mahlagha Ghorbanli², Hossein Sabouri^{3*}, Ahmad Reza Dadras⁴,
Ali Sattarian⁵ and Hossein Ali Fallahi⁶**

Received: June 6, 2014

Accepted: October 20, 2015

Abstract

In this study, AFLP markers were used to investigate the genetic diversity among 24 genotypes of barley. The eight primer combinations of *EcoRI/Tru1I*, totally produced 332 scorable bands that 292 (89.15 %) were polymorph. Genetic diversity was estimated between 0.29-0.38 using Nei's gene diversity coefficient. Also, genetic similarity of the genotypes varied from 0.20.0 to 0.56. The highest (0.47 %) and lowest (0.26 %) polymorphism were obtained using primer combinations of *EcoRI+ACG-Tru1I+CGA* and *EcoRI+ACT-Tru1I+CCG*, respectively. Cluster analysis using Jaccard coefficient and UPGMA method assigned genotypes to four main groups. In the first and second groups there were six-rows genotypes and in the third and fourth groups a combination of six- and two-rows genotypes. On the based on similarity matrix the genetic distance between Nimrouz and genotype population Khorasan-Razavi also genotype population of Karaje TN2173 and Line EB-86-3 was low, while the genetic distance between genotype population of Tilabad and cross (F1) ALISOS/CI03909-2 was high. Considering to achieving high rates of polymorphism in the present study can use AFLP marker specially primer combination such as *ACG-Tru1I+CGA+ EcoRI* which produced high level of polymorphism as a powerful tool to distinguish of close genotypes and other barley breeding programs.

Keywords: Cluster analysis, Nei's gene diversity, Polymorphic information content, Shanon's index

-
1. M. Sc. Graduated, Dept. of Biology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran
 2. Prof., Dept. of Biology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran
 3. Assoc. Prof., Dept. of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Gonbad-e-Kavous University, Gonbad-e-Kavous, Iran
 4. Ph. D. Graduated, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
 5. Assist. Prof., Dept. of Natural Resources, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad-e-Kavous University, Gonbad-e-Kavous, Iran
 6. Assist. Prof., Dept. of Horticulture and Crops Research, Mazandaran Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran

* Corresponding author: hos.sabouri@gmail.com