



University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Analysis of genetic diversity of barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes by microsatellite markers

Homa Zallaghi¹, Mohammad Moghaddam^{2*}, Seyed Abolghasem Mohammadi³ and Behzad Sadeghzadeh⁴

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

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

(* Corresponding author: mmoghaddam@tabrizu.ac.ir)

3. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4. Research Associate Professor, Dryland Agriculture Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Maragheh, Iran

Comprehensive abstract

Introduction

Knowledge of the level of genetic diversity and its estimation in plant germplasms is the basis of many breeding programs. Due to high levels of polymorphism, high reproducibility, polyallelic nature, codominant scoring, and high genomic frequency, microsatellite (SSR) markers are used widely in investigating genetic diversity and determining the relationships between genotypes. This research aimed to study the genetic diversity of 40 barley genotypes in terms of SSR markers and to determine the markers with the highest discriminating ability.

Materials and methods

In this research, the genetic diversity of 39 barley cultivars and one wild barley genotype was investigated in terms of 57 SSR markers, of which 51 polymorphic markers with clear and acceptable amplification were selected for molecular evaluation of the genotypes. The banding pattern of markers was scored as one (presence of the band) and zero (absence of the band) and also, as the codominance state. Then, the efficiency of the markers was evaluated by the polymorphism information content, frequency of common alleles, number of alleles, observed heterozygosity, and gene diversity. In addition, barley genotypes were grouped by cluster analysis with the Minimum Evolution algorithm and the P-Distance coefficient.

Research findings

Totally, 200 alleles (with an average of 3.92 alleles per locus) were amplified. The average polymorphism information content and gene diversity for these markers were 0.48 and 0.54, respectively. The frequency of common alleles ranged from 0.25 to 0.92 with an average of 0.56, which belonged to the GBMS021 and GBM1275 markers, respectively. Also, the GBMS027 marker had the highest polymorphism information content, expected heterozygosity, and allele number. Cluster analysis assigned the genotypes into three groups. The first group had the highest number of genotypes from the temperate regions (either warm or cold) with spring growth habit. The second group consisted mainly of genotypes from the temperate and cold regions with spring and intermediate growth habits. The third group was mostly a mixture of genotypes from temperate and tropical regions with the intermediate and spring growth habit, and most foreign genotypes were also assigned to this group. However, cluster analysis based on SSR markers couldn't fully separate the genotypes of different geographical regions, and with different growth habits.



Conclusion

In general, there was significant genetic diversity among the barley genotypes studied in terms of SSR markers, and the markers GBMS027, GBMS021, GBMS006, GBMS180, GBMS0160, GBM1272, and GBMS002 were identified as markers with the highest discriminating ability due to having the higher amount of polymorphic information content, expected heterozygosity, and allele number. This diversity can be utilized in the barley breeding programs.

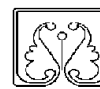
Keywords: Cluster analysis, Common allele, Expected heterozygosity, Gene diversity, Polymorphism information content, SSR markers

Received: February 4, 2024

Accepted: August 22, 2024

Cite this article:

Zallaghi, H., Moghaddam, M., Mohammadi, S.A., & Sadeghzadeh, B. (2024). Analysis of genetic diversity of barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes by microsatellite markers. *Cereal Research*, 14(2), 183-195.



ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو (*Hordeum vulgare* L.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

هما زلقی^۱، محمد مقدم^{۲*}، سید ابوالقاسم محمدی^۳ و بهزاد صادق‌زاده^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- استاد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران (* نویسنده مسئول)

mmoghaddam@tabrizu.ac.ir

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

۴- دانشیار پژوهش، موسسه تحقیقات دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران

چکیده جامع

مقدمه: آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی و برآورد آن در ژرم‌پلاسم‌های گیاهی، اساس بسیاری از برنامه‌های به‌نژادی به‌شمار می‌رود. نشانگرهای ریزماهواره (SSR) به‌دلیل تکرارپذیری بالا، ماهیت چندآلی، توارث هم‌باز و فراوانی ژنومی بالا، کاربرد فراوانی در بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط بین ژنوتیپ‌ها دارند. هدف از این تحقیق، مطالعه تنوع ژنتیکی ۴۰ ژنوتیپ جو با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و شناسایی نشانگرهای برخوردار از بیش‌ترین توانایی متمایزکنندگی بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تنوع ژنتیکی ۳۹ رقم جو زراعی و یک ژنوتیپ جو وحشی با استفاده از ۵۷ نشانگر ریزماهواره بررسی شد که از این تعداد، ۵۱ نشانگر چندشکل و برخوردار از تکثیر واضح و قابل قبول، برای ارزیابی مولکولی ژنوتیپ‌ها انتخاب شدند. امتیازدهی الگوی نواری نشانگرها به‌صورت یک (وجود نوار) و صفر (عدم وجود نوار) و نیز به‌صورت هم‌باز انجام شد. سپس کارآیی نشانگرها به‌وسیله میزان اطلاعات چندشکلی، فراوانی آلل‌های شایع، تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسی مشاهده شده و تنوع ژنی (هتروزیگوسی مورد انتظار) ارزیابی شد. افزون بر این، ژنوتیپ‌های جو با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بر مبنای الگوریتم Minimum Evolution و ضریب P-distance گروه‌بندی شدند.

یافته‌های تحقیق: در مجموع ۲۰۰ آلل (با میانگین ۳/۹۲ آلل به‌ازای هر جایگاه) تکثیر شد. متوسط محتوای اطلاعات چندشکلی و تنوع ژنی (هتروزیگوسی مورد انتظار) برای این نشانگرها به‌ترتیب ۰/۴۸ و ۰/۵۴ بود. فراوانی آلل‌های شایع از ۰/۲۵ تا ۰/۹۲ و با میانگین ۰/۵۶ متغیر بود که به‌ترتیب به نشانگرهای GBM1275 و GBMS021 اختصاص داشت. نشانگر GBMS027 نیز از بیش‌ترین میزان اطلاعات چندشکلی، هتروزیگوسی مورد انتظار و تعداد آلل برخوردار بود. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را در سه گروه قرار داد. گروه اول دارای بیش‌ترین تعداد ژنوتیپ‌های مناطق معتدل (اعم از گرم یا سرد) با عادت رشدی بهاره بود. گروه دوم عمدتاً از ژنوتیپ‌های مناطق معتدل و سرد با عادت رشدی بهاره و بینابین تشکیل شد. گروه سوم، بیش‌تر شامل مخلوطی از ژنوتیپ‌های مناطق معتدل و گرمسیر با عادت رشدی بینابین و بهاره بود و بیش‌تر ژنوتیپ‌های خارجی نیز در این گروه واقع شدند. در عین حال، تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرهای ریزماهواره قادر به تفکیک کامل ژنوتیپ‌های مناطق جغرافیایی مختلف و با عادت رشدی متفاوت نبود.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی تنوع ژنتیکی قابل توجهی بین ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه از نظر نشانگرهای ریزماهواره وجود داشت. نشانگرهای GBMS027، GBMS021، GBMS006، GBMS180، GBMS0160، GBMS1272 و GBMS002 به‌علت دارا بودن میزان اطلاعات چندشکلی، هتروزیگوسی مورد انتظار و تعداد آلل بالاتر، به‌عنوان نشانگرهای برخوردار از بیش‌ترین توانایی متمایزکنندگی شناسایی شدند. از تنوع موجود می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی جو استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آلل شایع، تجزیه خوشه‌ای، تنوع ژنی، محتوای اطلاعات چندشکلی، نشانگرهای ریزماهواره، هتروزیگوسی مورد انتظار

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۱

نحوه استناد به این مقاله:

زلفی، هما، مقدم، محمد، محمدی، سید ابوالقاسم، و صادق‌زاده، بهزاد. (۱۴۰۳). ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو (*Hordeum vulgare* L.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. *تحقیقات غلات*، ۱۴ (۲)، ۱۹۵-۱۸۳.

مقدمه

جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) که با احتمال زیاد از خویشاوند وحشی خود (*H. spontaneum* L.) اهلی شده است (Badr *et al.*, 2000)، دارای فرمول کروموزومی $2n=2x=14$ (Marcussen *et al.*, 2014) است. این گیاه خودگرده‌افشان و دیپلوئید و دارای هفت کروموزوم پایه با اندازه ژنوم $1/5$ گیگا باز است. به سبب پیچیدگی نسبتاً کم ژنوم و رخداد قابل توجه جهش در آن، جو یک گیاه مدل برای مطالعه گونه‌های مختلف خانواده Triticeae به‌شمار می‌رود (Mayer *et al.*, 2012). بر اساس آمار فائو (FAO, 2022)، جو چهارمین غله با اهمیت در دنیا بعد از گندم، برنج و ذرت است و سطح زیر کشت آن در ایران در سال ۲۰۲۲ برابر با $1/65$ میلیون هکتار با تولید بیش از سه میلیون تن بوده است. علاوه بر اهمیت تغذیه‌ای، جو در صنعت برای تولید مالت (Piacentini *et al.*, 2015) به‌کار می‌رود.

اطلاع از سطح تنوع و روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها در ژرم‌پلاسم‌های گیاهی لازمه استفاده بهینه از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی است (Wang *et al.*, 2013). بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط بین ژنوتیپ‌ها می‌تواند بر اساس داده‌های مورفولوژیک، مولکولی و اطلاعات شجره‌ای انجام گیرد. با توجه به کمبود اطلاعات شجره‌ای کامل برای اغلب ژنوتیپ‌ها و مشکلات مربوط به داده‌های مورفولوژیک، استفاده از نشانگرهای DNA به‌علت فراوانی و توزیع ژنومی تصادفی، چندشکلی بالا و عدم تاثیرپذیری از شرایط محیطی، مرحله رشدی، اندام و بافت گیاه در این نوع مطالعات متداول‌تر شده است (Schulman, 2007). از بین نشانگرهای مبتنی بر DNA، نشانگرهای ریزماهواره (SSR) به‌دلیل تکرارپذیری بالا، ماهیت چندآلی، توارث هم‌باز، فراوانی ژنومی بالا و توزیع در نواحی رمز کننده و غیر رمز کننده ژنوم کاربرد زیادی در بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم‌های گیاهی و تعیین روابط بین ژنوتیپ‌ها دارند (Gupta & Varshney, 2000).

ماریه و همکاران (Mariey *et al.*, 2020) در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۵ ژنوتیپ جو مقاوم و حساس به تنش کم‌آبی با استفاده از ده نشانگر SSR، ۲۰ آلل چندشکل و با میانگین دو آلل به‌ازای هر جایگاه SSR گزارش کردند. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) نشانگرهای مورد استفاده از ۰/۵۸ تا ۰/۲۳ با میانگین ۰/۲۲۷ متغیر بود. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را در دو گروه قرار داد و

ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به تنش کم‌آبی را از هم تفکیک کرد. مرزگوگی و همکاران (Marzougui *et al.*, 2020) تنوع ژنتیکی ۳۲ ژنوتیپ جو مصری را با استفاده از ۶۲ نشانگر SSR بررسی و در مجموع ۸۹ آلل با دامنه دو تا پنج آلل به‌ازای هر جایگاه گزارش کردند. آن‌ها متوسط تعداد آلل‌ها در هر نشانگر را $3/4$ آلل و متوسط محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) را $0/45$ به‌دست آوردند و با تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را به پنج گروه منتسب کردند. دیدو و همکاران (Dido *et al.*, 2022) نیز تنوع ژنتیکی ۳۸۴ ژنوتیپ جو را به‌کمک ۴۹ نشانگر SSR بررسی کردند و در مجموع ۴۷۹ آلل با میانگین $9/75$ آلل در هر نشانگر به‌دست آوردند و سپس با تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها را در هفت گروه دسته‌بندی کردند. علی و همکاران (Ali *et al.*, 2023) در مطالعه تنوع ژنتیکی ۱۰۰ ژنوتیپ جو با استفاده از ۳۳ نشانگر SSR، ۱۳۳ آلل با میانگین $4/03$ آلل به‌ازای هر جایگاه به‌دست آوردند و تعداد آلل‌ها در هر نشانگر را از دو تا شش آلل گزارش کردند. آبه و همکاران (Abebe *et al.*, 2023) نیز به‌منظور تعیین تنوع ژنتیکی ۲۰ ژنوتیپ جو متعلق به مناطق جغرافیایی مختلف اتیوپی، از ۱۵ نشانگر SSR استفاده و در کل ۵۷ آلل چند شکل با تعداد دو تا هفت آلل در هر نشانگر شناسایی کردند. در بیش‌تر این مطالعات، تنوع ژنتیکی قابل توجهی بین ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه از نظر نشانگرهای SSR گزارش شد که بیانگر غنای ژرم‌پلاسم جو در دنیا است.

هدف از تحقیق حاضر بررسی تنوع ژنتیکی ۴۰ ژنوتیپ جو با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره (SSR) و شناسایی نشانگرهای دارای بیش‌ترین توانایی متمایزکنندگی بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA

مواد گیاهی این تحقیق شامل ۳۹ رقم جو زراعی و یک ژنوتیپ جو وحشی (جدول ۱) بود که از موسسه تحقیقات دیم کشور تهیه شد. استخراج DNA از برگ‌های تازه گیاه در مرحله چند هفته‌گی با استفاده از روش CTAB (Saghai-Marouf *et al.*, 1994) انجام شد. کیفیت و کمیت نمونه‌های DNA توسط الکتروفورز ژل آگارز $0/8$ درصد و اسپکتروفتومتر تعیین شد. برای بررسی تنوع ژنتیکی ۴۰ ژنوتیپ جو از ۵۷ نشانگر SSR استفاده شد که از این تعداد، ۵۱ نشانگر چندشکل که

زنجیره‌ای پلی‌مرز با استفاده از ژل پلی‌اکریلامید ۴ درصد در دستگاه ژل اسکن ۳۰۰۰ (شرکت Corbett Robotics استرالیا) جداسازی و تفکیک شدند. برای تجزیه داده‌ها، الگوی نواری نشانگرها به صورت یک (وجود نوار) و صفر (عدم وجود نوار) امتیازدهی و ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای با الگوریتم Minimum Evolution و ضریب P-distance به کمک نرم‌افزار MEGA 4.0.2 (Tamura *et al.*, 2011) گروه‌بندی شدند. افزون بر این، نشانگرها به صورت هم‌بارز نیز امتیازدهی و سپس کارایی نشانگرها بر اساس تعداد آلل‌ها، فراوانی آلل شایع، هتروزیگوسی مشاهده شده، شاخص PIC و تنوع ژنی با استفاده از نرم‌افزار Power Marker (Liu & Muse, 2005) برآورد شد.

تکثیر واضح و قابل قبول داشتند، برای ارزیابی مولکولی ژنوتیپ‌ها انتخاب شدند (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در حجم ۱۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۰/۵ میکرولیتر از هر آغازگر (مستقیم و معکوس)، ۳ میکرولیتر آب دیونیزه و ۴ میکرولیتر Master Mix (شامل Taq DNA polymerase, dNTPs, Tween 0.2%, MgCl₂, SO₄(NH₄), Tris-HCl انجام شد. چرخه دمایی شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه به مدت دو دقیقه، اتصال آغازگر در دمای ۶۰-۵۵ درجه بسته به آغازگر به مدت یک دقیقه و بسط در دمای ۷۲ درجه به مدت یک دقیقه بود و در انتها نیز یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصولات واکنش

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های جو مورد استفاده در این آزمایش

Table 1. Characteristics of the studied barley genotypes in this experiment

Genotype	Area	Growth habit	Genotype	Area	Growth habit
Gohar	Warm temperate	Spring	Dasht	Warm temperate	Intermediate
Zarjo	Cold temperate	Intermediate	Nimroz	Warm temperate	Intermediate
Eram	Warm temperate	Spring	Nosrat	Warm temperate	Intermediate
Valfajr	Cold temperate	Intermediate	Abidar	Cold temperate	Intermediate
Aras	Cold temperate	Intermediate	Torsh	Tropical	Intermediate
Reyhan	Warm temperate	Spring	Sina	Warm temperate	Spring
Sahra	Warm temperate	Intermediate	Shirin	Tropical	Intermediate
Afzal	Cold temperate	Intermediate	Lot	Temperate	Spring
Gorgan	Tropical	Spring	Yousef	Temperate	Spring
Karon	Tropical	Intermediate	Zehak	Tropical	Spring
Jonoob	Tropical	Intermediate	BehRozh	Temperate	Spring
Makoei	Mountainous & cold	Intermediate	Productive	Cold temperate	Spring
Bahman	Mountainous & cold	Intermediate	Ashar	-	Winter
Bolbol	Temperate	Winter	Clipper	Cold	Spring
Fajr	Cold temperate	Intermediate	Igri	Cold	Spring
Rehan-a3	Warm temperate	Spring	Yea-88	Cold	Spring
Kavir	Temperate & warm	Intermediate	Sahara	-	Winter
Seyed Tajaddin	Cold	Spring	Morex	Temperate	Spring
Nik	Temperate	Spring	Steptoe	Temperate	Spring
GareArpa	Mountainous & cold	Spring	TN-a2-2t6		

نتایج و بحث

چند شکلی نشانگرها

تعداد آن با دو آلل برای ۱۴ نشانگر ثبت شد. مقدار PIC قدرت تفکیک یک نشانگر را بر اساس تعداد آلل و فراوانی نسبی آن‌ها در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد و میزان بالای آن بیانگر چندشکلی زیاد و وجود آلل یا آلل‌های نادر در یک جایگاه ژنی است. میزان PIC با میانگین ۰/۴۸ از ۰/۱۲ تا ۰/۸۳ در نشانگرهای مورد مطالعه متغیر بود و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آن به ترتیب برای نشانگرهای GBMS027 و GBM1275 برآورد شد.

جایگاه کروموزومی، PIC، هتروزیگوسی مشاهده شده، تنوع ژنی، تعداد آلل‌ها و فراوانی آلل شایع نشانگرهای SSR مورد مطالعه در جدول ۲ و الگوی نواری آغازگر GBMS003 به عنوان نمونه در شکل ۱ ارائه شده است. با استفاده از ۵۱ جفت آغازگر در مجموع ۲۰۰ آلل با میانگین ۳/۹۲ آلل در هر جایگاه تکثیر شد. بیش‌ترین تعداد آلل (۱۰ آلل) در نشانگر GBMS027 و کم‌ترین

همکاران (Khalil *et al.*, 2020) نیز هفت ژنوتیپ جو را با استفاده از ۱۴ جفت آغازگر SSR بررسی کردند که ۱۳ نشانگر چندشکل بودند. آن‌ها در مجموع ۴۲ آلل با میانگین سه آلل به‌ازای هر جایگاه مشاهده و تعداد آلل‌ها در هر جایگاه و درصد چندشکلی را به‌ترتیب ۱ تا ۷ و ۸۸/۲۷ درصد گزارش کردند. در مطالعه کمی و همکاران (Ghomi *et al.*, 2021) نیز ۱۲۰ ژنوتیپ جو با استفاده از ۵۰ نشانگر SSR ارزیابی و در مجموع ۱۵۳ آلل با میانگین ۳/۲۱ آلل در هر نشانگر تکثیر شد و تعداد آلل‌ها در هر نشانگر بین ۲ تا ۹ آلل متغیر بود. جان و همکاران (Jan *et al.*, 2022) در بررسی تنوع ژنتیکی ۹۶ ژنوتیپ جو مناطق جنوبی هیمالیا با ۱۴ نشانگر SSR، در مجموع ۶۷ آلل با دامنه ۸-۲ و میانگین ۴/۷۸ آلل به‌ازای هر جایگاه گزارش کردند. نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت خوبی با اغلب این مطالعات از نظر تعداد آلل‌ها و میزان PIC داشت.

تنوع ژنی یا هتروزیگوسی مورد انتظار، احتمال متفاوت بودن دو آلل انتخاب شده تصادفی از دو فرد را نشان می‌دهد. بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار تنوع ژنی به‌ترتیب به نشانگرهای GBMS027 (۰/۸۴) و GBM1275 (۰/۱۳) اختصاص داشت. نشانگرهای با PIC بالا، تنوع ژنی بالایی نیز داشتند. هتروزیگوسیته مشاهده شده نیز در ۲۹/۴ درصد از نشانگرها صفر و در بقیه نشانگرها از ۰/۰۲ تا ۰/۳۹ متغیر بود. در مجموع، نشانگر GBMS027 و به دنبال آن نشانگرهای GBMS021، GBMS006، GBMS180، GBMS0160، GBM1272 و GBMS002 با برخورداری از میزان PIC، هتروزیگوسی مورد انتظار و تعداد آلل بیش‌تر، اطلاعات مفید بیش‌تری در زمینه تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه ارائه دادند و می‌توان آن‌ها را به‌عنوان نشانگرهای برخوردار از بیش‌ترین قدرت تمایزکنندگی در نظر گرفت. در مطالعه حیدری و همکاران (Heidari *et al.*, 2011) روی ۳۵ رقم و لاین جو، میزان تنوع ژنی از ۰/۱۹ تا ۰/۹ و میزان هتروزیگوسی مشاهده شده از صفر تا ۰/۲۳ گزارش شد. لاهوت و همکاران (Lahoot *et al.*, 2016) با مطالعه تنوع ژنتیکی ۶۳ ژنوتیپ جو با استفاده از ۲۹ جفت نشانگر چندشکل، هتروزیگوسیته مورد انتظار را در محدوده ۰/۳۸ تا ۰/۸۲ با میانگین ۰/۶۴ به‌دست آوردند.

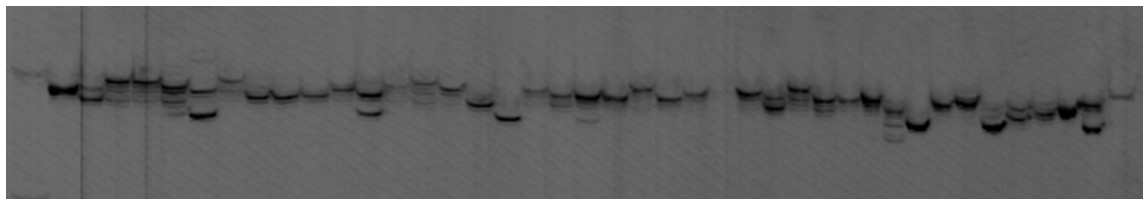
نام‌آور و همکاران (Namavar *et al.*, 2016) تعداد ۵۵ نمونه جو وحشی (*Hordeum spontaneum*) از مناطق مختلف دنیا را با ۱۴ جفت آغازگر SSR مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها تعداد کل آلل‌ها را در مجموع ۵۳ آلل با میانگین ۲/۵ آلل به‌ازای هر جفت آغازگر گزارش و میزان PIC را نیز از ۰/۳۷ تا ۰/۸۱ با میانگین ۰/۶۳ برآورد کردند. فریرا و همکاران (Ferreira *et al.*, 2016) ۶۴ ژنوتیپ جو شامل رقم‌ها و لاین‌های برزیلی، رقم‌های خارجی و ژنوتیپ‌های وحشی (*H. vulgare ssp. spontaneum*) را از نظر ۳۴ نشانگر SSR بررسی کردند. این محققین در مجموع ۲۸۰ آلل با میانگین ۸ آلل به‌ازای هر جایگاه به‌دست آوردند و میزان PIC را در محدوده ۰/۰۷ تا ۰/۸۶ گزارش کردند. بالاترین میانگین PIC نیز در گروه جوهای وحشی (۰/۶۳) و در مرتبه بعد در گروه رقم‌های خارجی (۰/۵۸) مشاهده شد و کم‌ترین میانگین PIC به رقم‌ها و لاین‌های برزیلی اختصاص داشت. این محققین کاهش تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های جدیدتر برزیلی را اعلام کردند و افزایش تنوع ژنتیکی برای بهره‌برداری از آلل‌های جدید در برنامه‌های اصلاحی جو برزیل را پیشنهاد دادند. لاهوت و همکاران (Lahoot *et al.*, 2016) در بررسی تنوع ژنتیکی ۶۳ ژنوتیپ ایرانی و غیر ایرانی جو از ۲۹ جفت آغازگر برخوردار از چند شکلی استفاده کردند. ایشان در مجموع ۲۲۵ آلل با میانگین ۲/۷ آلل برای هر جفت آغازگر شناسایی و میزان PIC را از ۰/۲۱ تا ۰/۸۹ برآورد کردند. در این تحقیق ژنوتیپ‌های ایرانی جو دارای تنوع بالایی بودند. این محققین اظهار داشتند که نشانگرهای SSR تنوع موجود در ژرم‌پلاسم مورد مطالعه را به‌خوبی نمایش می‌دهند. کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2020) برای انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی، تنوع ژنتیکی ۴۸ نمونه جو معرفی شده از ICARDA را به‌کمک ۵۱ نشانگر SSR مطالعه و در مجموع ۱۵۸ جایگاه چندشکل با متوسط ۳/۲۸ آلل در هر جایگاه SSR مشاهده کردند. دامنه تغییرات PIC بین ۰/۱۵ تا ۰/۷۸ با میانگین ۰/۴۹ بود که بیانگر چندشکلی بالا برای نشانگرهای SSR انتخابی و وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در میان نمونه‌های جو مورد آزمایش بود. این محققین منابع ژنتیکی انتخاب شده در این مطالعه را برای اصلاح جو در هند و سایر کشورها مفید دانستند. خلیل و

جدول ۲- نشانگرهای ریزماهواره مطالعه شده در ژنوتیپ‌های جو به‌همراه جایگاه کروموزومی، میزان اطلاعات چندشکلی، هتروزیگوسیتی

مشاهده شده، تنوع ژنی، تعداد آلل‌ها و فراوانی آلل شایع

Table 2. SSR markers studied in barley genotypes along with chromosomal locations, polymorphism information content (PIC), observed heterozygosity (H_o), gene diversity (H_e), number of alleles (N_a), and frequency of common allele (FCA)

Marker	Chromosome	PIC	H_o	H_e	N_a	FCA
GBM1420	3H	0.54	0.08	0.60	5	0.52
GBM1419	7H	0.55	0.26	0.61	5	0.55
GBM1413	3H	0.59	0.14	0.65	4	0.47
GBM1388	4H	0.42	0.13	0.50	3	0.63
GBM1506	5H	0.32	0.12	0.34	5	0.80
GBMS183	7H	0.61	0.39	0.65	6	0.51
GBM1509	4H	0.37	0.00	0.49	2	0.53
GBM1359	7H	0.35	0.00	0.45	2	0.64
GBM1253	3H	0.48	0.00	0.55	3	0.58
GBM1323	4H	0.57	0.23	0.63	4	0.50
GBM1336	1H	0.29	0.00	0.35	2	0.77
GBMS046	3H	0.57	0.02	0.62	6	0.52
GBMS027	5H	0.83	0.08	0.84	10	0.27
GBMS021	5H	0.77	0.16	0.80	6	0.25
GBMS006	5H	0.75	0.07	0.78	8	0.35
GBMS0160	2H	0.74	0.02	0.77	6	0.35
GBM1501	4H	0.37	0.02	0.49	2	0.51
GBMS001	5H	0.64	0.25	0.68	6	0.46
GBMS002	2H	0.71	0.15	0.75	6	0.38
GBMS003	7H	0.71	0.21	0.74	5	0.39
GBM1482	4H	0.68	0.00	0.72	6	0.43
GBM1446	2H	0.50	0.02	0.55	4	0.61
GBM1272	1H	0.73	0.00	0.76	8	0.39
GBM1299	4H	0.34	0.02	0.42	3	0.70
GBM1475	2H	0.28	0.02	0.33	3	0.79
GBM1227	1H	0.36	0.05	0.48	2	0.60
GBM1214	2H	0.67	0.02	0.71	4	0.39
GBM1121	2H	0.41	0.10	0.46	3	0.70
GBM1270	6H	0.23	0.07	0.27	2	0.83
GBM1234	1H	0.34	0.00	0.44	2	0.66
GBM1231	5H	0.36	0.02	0.44	3	0.68
GBM1220	4H	0.30	0.00	0.37	2	0.75
GBM1350	4H	0.45	0.10	0.55	3	0.48
GBM1275	6H	0.12	0.00	0.13	2	0.92
GBM1465	4H	0.37	0.15	0.49	2	0.55
GBM1468	2H	0.42	0.07	0.52	3	0.59
GBM1356	6H	0.39	0.00	0.49	3	0.60
GBMS180	6H	0.74	0.24	0.77	7	0.37
GBM5210	4H	0.67	0.17	0.71	6	0.42
GBMS141	5H	0.51	0.10	0.59	3	0.53
GBM1451	1H	0.54	0.02	0.62	3	0.43
GBM1428	7H	0.36	0.00	0.48	2	0.57
GBM1334	1H, 7H	0.37	0.00	0.49	2	0.53
GBM1276	6H	0.41	0.00	0.52	3	0.52
GBM5018	2H	0.53	0.00	0.58	4	0.57
GBM1490	5H	0.59	0.07	0.64	4	0.51
GBM1469	2H	0.31	0.00	0.39	2	0.72
GBM1324	4H	0.56	0.02	0.62	4	0.51
GBM1233	3H	0.43	0.02	0.50	3	0.63
GBM1297	7H	0.17	0.07	0.19	2	0.88
GBM1226	3H	0.38	0.02	0.47	4	0.64
Mean	-	0.48	0.07	0.54	3.92	0.56



شکل ۱- الگوی نواری آغازگر GBMS003 در ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه
Figure 1. Banding pattern of GBMS003 in the studied barley genotypes

نشانگرهای SSR مطابقت زیادی با یافته‌های مطالعات قبلی داشت که بیانگر غنی بودن ژرم‌پلاسم جهانی جو از نظر تنوع ژنتیکی است و بنابراین می‌توان از این تنوع برای بهبود ویژگی‌های جو در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها

تجزیه خوشه‌ای بر اساس معیار P-distance و الگوریتم Minimum Evolution ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه را به سه گروه اصلی تفکیک کرد (شکل ۲). گروه اول، بیش‌ترین تعداد ژنوتیپ‌های مناطق معتدل (اعم از گرم یا سرد) با عادت رشد بهاره را شامل شدند. گروه دوم، بیش‌تر شامل مخلوطی از ژنوتیپ‌های مناطق معتدل و سرد با عادت رشد بهاره و بینابین و گروه سوم، بیش‌تر شامل ژنوتیپ‌های مناطق معتدل و گرمسیر با عادت رشد بینابین و بهاره بود و بیش‌تر ژنوتیپ‌های خارجی نیز در این گروه قرار گرفتند. به‌طور کلی، تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرهای SSR مورد استفاده در این تحقیق نتوانست ژنوتیپ‌های مناطق جغرافیایی مختلف و یا ژنوتیپ‌های با عادت رشدی متفاوت را به‌طور کامل از هم تفکیک کند، ولی چنان‌که عنوان شد، بیش‌تر ژنوتیپ‌های خارجی در یک گروه قرار گرفتند. عدم انطباق تنوع ژنتیکی ناشی از نشانگرهای SSR با مناطق جغرافیایی و عادت رشدی در تحقیق حاضر را می‌توان به نوع نشانگرها و تبادل ژنی بین ژنوتیپ‌های جو مناطق مختلف در اثر دورگ‌گیری در برنامه‌های اصلاحی نسبت داد.

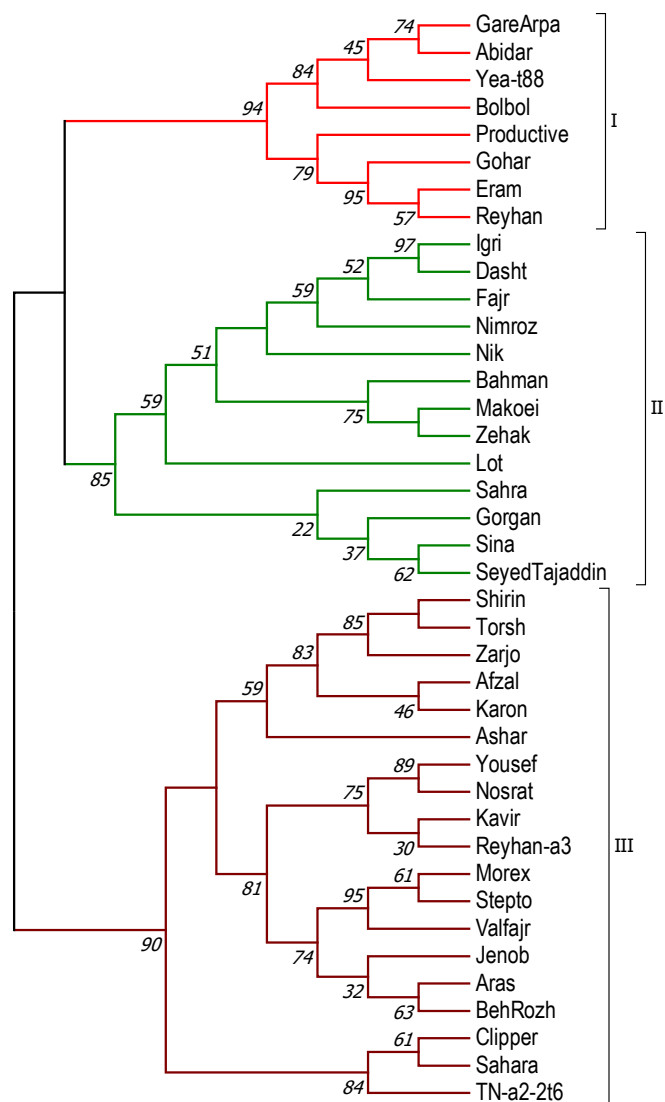
آل شایع آلی است که دارای بیش‌ترین فراوانی در بین کلیه آل‌های تکثیر شده به وسیله یک آغازگر است. فراوانی آل‌های شایع از ۰/۲۵ تا ۰/۹۲ با میانگین ۰/۵۶ متغیر بود که به‌ترتیب به نشانگرهای GBMS021 و GBM1275 اختصاص داشت. فراوانی آل‌های شایع در مطالعه شورزودی و همکاران (Shoorvazdi *et al.*, 2014) در محدوده ۰/۱۳ تا ۰/۹۷ و در مطالعه لاهوت و همکاران (Lahoot *et al.*, 2016) در محدوده ۰/۱۴ تا ۰/۸۲ با میانگین ۰/۳۹ بود. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2020) که فراوانی آل‌های شایع را در بررسی تنوع ژنتیکی ۴۸ نمونه جو ICARDA به‌کمک ۵۱ نشانگر SSR از ۰/۲۷ تا ۰/۹۲ با میانگین ۰/۵۳ به‌دست آوردند، مطابقت داشت. اطلاعات ژنومی نشانگرهای SSR مورد استفاده در این مطالعه به‌تفکیک کروموزوم‌های جو در جدول ۳ ارائه شده است. بیش‌ترین تعداد آل، میزان تنوع ژنی و PIC به کروموزوم 5H تعلق داشت، در حالی‌که در مطالعه کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2020) با ۵۱ نشانگر SSR، بیش‌ترین تعداد آل به‌ترتیب برای کروموزوم‌های 1H، 2H و 6H و بیش‌ترین میزان PIC برای کروموزوم‌های 1H، 2H و 3H گزارش شد. اختلاف نتایج این تحقیق با یافته‌های کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2020) از نظر توزیع تعداد آل‌ها و میزان PIC در کروموزوم‌ها را می‌توان به تفاوت در نشانگرها و ژنوتیپ‌های مطالعه شده منتسب کرد. به‌طور کلی، نتایج این تحقیق بر اساس

جدول ۳- اطلاعات ژنومی نشانگرهای جو بر اساس کروموزوم‌ها

Table 3. The genomic information of barley markers according to the chromosomes

Chromosome	1H	2H	3H	4H	5H	6H	7H
Number of locations	6	9	6	11	8	5	7
Average number of alleles	3.17	3.89	4.17	3.36	5.63	3.40	3.43
Average gene diversity	0.52	0.56	0.57	0.54	0.64	0.44	0.52
Average PIC [†]	0.44	0.51	0.50	0.46	0.60	0.38	0.45

[†] Polymorphism information content



شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های جو بر اساس داده‌های نشانگرهای SSR با استفاده از ضریب P-distance و الگوریتم Minimum Evolution. اعداد بالای هر خوشه نشان‌دهنده درصد قابلیت اعتماد آن خوشه است.

Figure 2. Grouping of the barley genotypes based on SSR markers data using Minimum Evolution algorithm and P-Distance coefficient. The numbers above each cluster indicate the percentage reliability of that cluster

متفاوتی قرار گرفتند. کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2020) نیز نمونه‌های جو معرفی شده از ICARDA را از نظر نشانگرهای SSR با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به‌روش Neighbour-joining به دو گروه متفاوت تقسیم و کلیه نمونه‌های جو دارای پوشینه را از جوهای بدون پوشینه تفکیک کردند. دیدو و همکاران (Dido *et al.*, 2022) با ۴۹ نشانگر SSR، ۳۸۴ ژنوتیپ جو بومی متعلق به ۱۰ منطقه جغرافیایی ایتوپی را با تجزیه خوشه‌ای به‌روش Neighbour-joining در هفت گروه قرار دادند. آن‌ها انطباق معنی‌داری را بین گروه‌های حاصل از تجزیه

لاهوت و همکاران (Lahoot *et al.*, 2016) با بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های ایرانی و غیر ایرانی جو از طریق نشانگرهای SSR نتوانستند ژنوتیپ‌های ایرانی را از غیر ایرانی جدا سازند و ژنوتیپ‌های ایرانی در کلیه خوشه‌ها پراکنده بودند. در عین حال، محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2020) با استفاده از ۷۲ نشانگر SSR و ۷۷ نشانگر EST-SSR، ۱۴۴ توده بومی و رقم‌های اصلاح شده جو ایرانی و خارجی را بر اساس تجزیه خوشه‌ای، گروه‌بندی کردند که در آن، توده‌های بومی ایرانی و خارجی و ارقام اصلاح شده در گروه‌های

تحقیق وجود داشت که از این تنوع می‌توان در برنامه‌های اصلاحی جو استفاده کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مرکز تحقیقات دیم کشور برای فراهم کردن مواد گیاهی قدردانی می‌شود. این تحقیق با حمایت مالی قطب اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز انجام شد.

تضاد منافع

نویسندگان تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هرگونه روابط تجاری یا مالی می‌تواند به عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

رعایت اخلاق در نشر

نویسندگان اعلام می‌کنند که در نگارش این مقاله به‌طور کامل از اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و انتشار دوگانه، پیروی کرده‌اند. همچنین این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی اصیل بوده و تاکنون به‌طور کامل به هیچ زبانی و در هیچ نشریه یا همایشی چاپ و منتشر نشده است و هیچ اقدامی نیز برای انتشار آن در هیچ نشریه یا همایشی صورت نگرفته و نخواهد گرفت.

اجازه انتشار مقاله

نویسندگان با چاپ این مقاله به‌صورت دسترسی باز موافقت کرده و کلیه حقوق استفاده از محتوا، جدول‌ها، شکل‌ها، تصویرها و غیره را به ناشر واگذار می‌کنند.

خوشه‌ای و مناطق جغرافیایی گزارش کردند که به‌نظر می‌رسد به علت عدم انجام عملیات اصلاحی روی توده‌های بومی و نبود تبادل ژنی بین آن‌ها باشد، به‌طوری که در این حالت نشانگرهای SSR می‌توانند مناطق جغرافیایی مختلف را از هم متمایز سازند.

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق، تنوع ژنتیکی ۴۰ ژنوتیپ جو با استفاده از ۵۷ نشانگر SSR ارزیابی شد که از این تعداد، ۵۱ نشانگر چندشکل بودند و در مجموع ۲۰۰ آلل با میانگین ۳/۹۲ آلل به‌ازای هر نشانگر تکثیر کردند. متوسط PIC و تنوع ژنی برای این نشانگرها به ترتیب ۰/۴۸ و ۰/۵۴ و فراوانی آلل‌های شایع از ۰/۲۵ تا ۰/۹۲ متغیر بود که به ترتیب به نشانگرهای GBMS021 و GBM1275 تعلق داشت. نشانگر GBMS027 دارای بیش‌ترین تعداد آلل، تنوع ژنی و مقدار PIC بود و به دنبال آن، به ترتیب نشانگرهای GBMS021، GBMS006، GBMS180، GBMS0160، GBM1272 و GBMS002 قرار گرفتند. بنابراین می‌توان این نشانگرها را به‌عنوان نشانگرهای برخوردار از اطلاعات مفید و توانایی متمایزکنندگی ژنوتیپ‌های جو در نظر گرفت. تجزیه خوشه‌ای نتوانست ژنوتیپ‌های مورد مطالعه جو را از نظر شرایط آب و هوایی و یا عادت رشدی از هم تفکیک کند که احتمالاً می‌تواند به دلیل تبادل ژنی ناشی از دورگ‌گیری بین ژنوتیپ‌های مناطق جغرافیایی مختلف باشد. به‌طور کلی، تنوع ژنتیکی قابل توجهی بین ژنوتیپ‌های جو بررسی شده در این

References

- Abebe, T. D., Abate, A., & Leon, J. (2023). Genetic diversity within landraces of barley (*Hordeum vulgare* L.) and its implications on germplasm collection and utilization. *Genetic Resources & Crop Evolution*, 70, 1985-1998. doi: [10.1007/s10722-023-01549-0](https://doi.org/10.1007/s10722-023-01549-0).
- Ali, M., Shaukat, F., Khan, W., Syed, A., Maqsood, J., Kamal, H., Ercisli, S., Balijagic, J., Ullah, R., Bari, A., Anwar, Z., Ijaz, A., Kashif, M., Khalid, M. N., Mustafa, H. S. B., & Zafar, M. M. (2023). Microsatellite-based diversity analysis and the development of core-set germplasm in Pakistani barley lines: Microsatellite-based diversity in Pakistani barley lines. *Cellular & Molecular Biology*, 69(10), 100-108. doi: [10.14715/cmb/2023.69.10](https://doi.org/10.14715/cmb/2023.69.10).
- Badr, A., Muller, K., Scafer-Pregl, R. El., Rabey, H., Effgen, S., Ibrahim, H. H., & Pozi, C. (2000). On the origin and domestication history of barley (*Hordeum vulgare*). *Molecular Biology & Evolution*, 17(4), 499-510. doi: [10.1093/oxfordjournals.molbev.a026330](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026330).
- Dido, A. A., Krishna, M. S. R., Assefa, E., Degefu, D. T., Singh, B. J. K., & Tesfaye, K. (2022). Genetic diversity, population structure and relationship of Ethiopian barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces as revealed by SSR markers. *Journal of Genetics*, 101, 9. doi: [10.1007/s12041-021-01346-7](https://doi.org/10.1007/s12041-021-01346-7).
- FAO. (2022). FAOSTAT. Food and Agriculture Organization. <http://faostat.fao.org>.

- Ferreira, J. R., Pereira, J. F., Turchetto, C., Minella, E., Consoli, L., & Delatorre, C. A. (2016). Assessment of genetic diversity in Brazilian barley using SSR markers. *Genetics & Molecular Biology*, 39(1), 86-96. doi: [10.1590/1678-4685-GMB-2015-0148](https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0148).
- Ghomi, K., Rabiei, B., Sabouri, H., & Gholamalipour Alamdari, E. (2021). Association analysis, genetic diversity and population structure of barley (*Hordeum vulgare* L.) under heat stress conditions using SSR and ISSR markers linked to primary and secondary metabolites. *Molecular Biology Reports*, 48(10), 6673-6694. doi: [10.1007/s11033-021-06652-y](https://doi.org/10.1007/s11033-021-06652-y).
- Gupta, P. K., & Varshney, R. K. (2000). The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*, 113, 163-185. doi: [10.1023/A:1003910819967](https://doi.org/10.1023/A:1003910819967).
- Heidari, A., Mohammadi, S. A., Moghaddam, M., Shakiba, M. R., Ghasemi-Golezani, K., & Yousefi, A. (2011). Analysis of genetic diversity in barley genotypes using SSR and EST-SSR markers. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 13, 146-156. [In Persian]. doi: [10.5539/jas.v5n7p12](https://doi.org/10.5539/jas.v5n7p12).
- Jan, S., Khan, M. N., Jan, S., Zaffar, A., Rashid, R., Khan, M. A., Sheikh, F. A., Ashraf Bhat, M., & Mir, R. R. (2022). Trait phenotyping and molecular marker characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm from Western Himalayas. *Genetic Resources & Crop Evolution*, 69, 661-676. doi: [10.1007/s10722-021-01251-z](https://doi.org/10.1007/s10722-021-01251-z).
- Khalil, M. R., Almahasneh, H. A., & Lawand, S. Y. (2020). Detection of genetic polymorphism in seven barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties using SSR. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 33(2), 115-124. doi: [10.37077/25200860.2020.33.2.10](https://doi.org/10.37077/25200860.2020.33.2.10).
- Kumar, P., Banjarey, P., Malik, R., Tikle, A. N., & Verma, R. P. S. (2020). Population structure and diversity assessment of barley (*Hordeum vulgare* L.) introduction from ICARDA. *Journal of Genetics*, 99, 70. doi: [10.1007/s12041-020-01226-6](https://doi.org/10.1007/s12041-020-01226-6).
- Lahoot, F., Zeinolabedini, M., Karimi, J., Shahbazi, M., & Sadeghzadeh, B. (2016). Assessment of genetic diversity of Iranian and non-Iranian barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) using SSR markers. *Crop Biotechnology*, 6(1), 25-35. [In Persian]. doi: [20.1001.1.22520783.1395.6.15.3.9](https://doi.org/20.1001.1.22520783.1395.6.15.3.9).
- Liu, K., & Muse, S. V. (2005). PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, 21, 2128-2129. doi: [10.1093/bioinformatics/bti282](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti282).
- Marcussen, T., Sandve, S. R., Heier, L., Spannagl, M., Pfeifer, M., Jakobsen, K. S., Wulff, B. B. H., Steuernagel, B., Mayer, K. F., & Olsen, O. A. (2014). Ancient hybridizations among the ancestral genomes of bread wheat. *Science*, 345, 1250092. doi: [10.1126/science.1250092](https://doi.org/10.1126/science.1250092).
- Mariey, S. A., El-Mansoury, M. A., Agwa, A. M., & Nashed, M. E. (2020). Genetic diversity of Egyptian barley cultivars for water stress using SSR markers. *International Journal of Environment*, 9(1), 14-25. doi: [10.36632/ije/2020.9.1.2](https://doi.org/10.36632/ije/2020.9.1.2).
- Marzougui, S., Kharrat, M., & Ben Younes, M. (2020). Assessment of genetic diversity and population structure of Tunisian barley accessions (*Hordeum vulgare* L.) using SSR markers. *Acta Agrobotanica*, 73(4), 7343. doi: [10.5586/AA.7343](https://doi.org/10.5586/AA.7343).
- Mayer, K. F. X., Martis, M., Hedley, P. E., Simkova, H., Liu, H., & Morris, J. A. (2012). Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. *The Plant Cell*, 23(4), 1249-1263. doi: [10.1105/tpc.110.082537](https://doi.org/10.1105/tpc.110.082537).
- Mohammadi, S. A., Abdollahi Sisi, N., & Sadeghzadeh, B. (2020). The influence of breeding history, origin and growth type on population structure of barley as revealed by SSR markers. *Scientific Reports*, 10, 19165. doi: [10.1038/s41598-020-75339-4](https://doi.org/10.1038/s41598-020-75339-4).
- Namavar, A., Tahmasebi, Z., Erfani Moghaddam, J., Fatehi, F., Yousefi, Z., & Zarei, B. (2016). Investigating genetic diversity of a sample of wild barley germplasm using SSR molecular marker. *Cereal Research*, 6(2), 201-214. [In Persian]. doi: [20.1001.1.22520163.1395.6.2.6.6](https://doi.org/20.1001.1.22520163.1395.6.2.6.6).
- Piacentini, K. C., Savi, G. D., Pereira, M. E. V., & Scussel, V. M. (2015). Fungi and natural occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). *Food Chemistry*, 187, 204-209. doi: [10.1016/j.foodchem.2015.04.101](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.101).
- Saghai-Marouf, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q., & Allard, R. W. (1994). Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(12), 5466-5470. doi: [10.1073/pnas.91.12.5466](https://doi.org/10.1073/pnas.91.12.5466).
- Schulman, A. H. (2007). Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica*, 58, 313-321. doi: [10.1007/s10681-006-9282-5](https://doi.org/10.1007/s10681-006-9282-5).

- Shoorvazdi, A., Mohammadi, S. A., Noroozi, M., & Sadeghzadeh, B. (2014). Molecular analysis of genetic diversity and relationships of barley landraces based on microsatellite markers. *Journal of Plant Genetic Research*, 1(1), 51-64. [In Persian]. doi: [10.29252/pgr.1.1.51](https://doi.org/10.29252/pgr.1.1.51).
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software, version 5.0. *Molecular Biology & Evolution*, 24, 1596-1599. doi: [10.1093/molbev/msr121](https://doi.org/10.1093/molbev/msr121).
- Wang, L., Jiao, S., Jiang, Y., Yan, H., Su, D., Sun, G., Yun, X., & Sun, L. (2013). Genetic diversity in parent lines of sweets sorghum based on agronomical traits and SSR markers. *Field Crops Research*, 149, 11-19. doi: [10.21276/sjavs.2018.5.10.2](https://doi.org/10.21276/sjavs.2018.5.10.2).