

تغییرات آلی، تجزیه ارتباط و تنوع هاپلوتایپی برای نشانگرهای ریزماهورای پیوسته به ژن‌های تحمل به اسیدیته خاک در جو

محسن رضایی^۱، حسین صبوری^{۲*}، عبداللطیف قلی‌زاده^۳، رحمت‌الله محمدی‌گنبد^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی در کشاورزی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، ایران.
 ۲. دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، ایران.
 ۳. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، ایران.
 ۴. استادیار پژوهش، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۴/۱)

Allelic variation, Association Analysis and haplotype diversity for microsatellite markers related to acidic soil tolerance genes in barley

Mohsen Rezaei¹, Hussein Sabouri^{2*}, Abdolatif Gholizadeh³, Rahmatollah Mohammadi-Gonbad⁴

1. M.Sc. student of Biotechnology Crop, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Iran.
 2. Associate Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Iran.
 3. Assistant Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Iran.
 4. Assistant Professor, Department of Plant Breeding Research and Preparation of Seed and Seedlings, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Education and Agricultural extension, Gorgan, Iran.
- (Received: Nov. 29, 2017 - Accepted: Jun. 22, 2018)

Abstract

Acidic soils are a serious threat to the production of crops throughout the world. In order to study the alleles associated with soil acidity tolerance in barley plant, and also accomplish effective haplotype groups, phenotypic testing in pots containing acidic soil and in the form of Augment with 96 genotypes and 4 controls, and 27 traits were evaluated on plants. To investigate the allelic and haplotypic diversity, the genotypes were identified by 7 microsatellite markers related to soil acidity tolerance. Analysis of allelic variation showed that the highest PIC and Gene Diversity were 3.429, 0.441 and 0.490 respectively, which belonged to the HvMATE-21indel marker, and the Cit7 marker had the lowest value. Also, the results of the haplotype study showed 41 haplotype groups. The group 16, which included genotype 6, had the highest yield and soil acidity resistance with a yield of 2.017 gr / plant. association analysis between molecular and phenotypic data suggested that among 20 effective alleles on the evaluated traits, the Do-D allele had the greatest impact on yield and its components with effect on 3 traits, number of seeds per spike, number of Fertile spike and yield (in plant). Do-B was also R^2 equal to 39.5 for the number of spikes per plant of the highest R^2 among the alleles involved in yields and yield components. The markers associated with tolerant haplotypes and tolerant genotypes in this study can be used in research and breeding programs.

Keywords: Acidity, allele, haplotype, regression, microsatellite markers.

چکیده

خاک‌های اسیدی یک تهدید جدی برای تولید گیاهان زراعی در سرتاسر جهان محسوب می‌شوند. به منظور بررسی آلل‌های مرتبط با تحمل به اسیدیته خاک در گیاه جو و همچنین گروه‌های هاپلوتایپ اثرگذار، آزمایش فنوتیپی در گلدان‌های حاوی خاک اسیدی و در قالب طرح آگمنت با ۹۶ ژنوتیپ و ۴ شاهد اجرا شد و ۲۷ صفت بر روی بوته‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی تنوع آلی و هاپلوتایپی، ژنوتیپ‌های مورد آزمایش به وسیله ۷ نشانگر ریزماهوره مرتبط با تحمل به اسیدیته خاک تعیین ژنوتیپ شدند. بررسی تنوع آلی نشان داد که بیشترین محتوی اطلاعات چند شکل و تنوع ژنی به ترتیب ۳/۴۲۹، ۰/۴۴۱ و ۰/۴۹۰ بوده که به نشانگر HvMATE-21indel تعلق داشت و نشانگر Cit7 دارای کمترین مقدار بود. همچنین نتایج بررسی هاپلوتایپی ۴۱ گروه هاپلوتایپ را نشان داد. گروه ۱۶ که شامل ژنوتیپ ۶ بود با عملکرد ۲/۰۱۷ گرم در هر بوته بیشترین عملکرد و مقاومت در برابر اسیدیته خاک را داشت. تجزیه ارتباط بین داده‌های مولکولی و فنوتیپی بیان گر این موضوع بود که از میان ۲۰ آلل مؤثر بر صفات مورد ارزیابی آلل Do-D با اثرگذاری بر روی سه صفت تعداد دانه در سنبله، تعداد خوشه بارور و عملکرد (در بوته) دارای بیشترین اثرگذاری بر روی عملکرد و اجزای آن بود. آلل Do-B نیز با R^2 ۳۹/۵ برای صفت تعداد سنبله در بوته بالاترین R^2 در بین آلل‌های دخیل در صفات مربوط به عملکرد و اجزا عملکرد را دارا بود. از نشانگرهای مرتبط با هاپلوتایپ‌های متحمل و ژنوتیپ‌های متحمل در این مطالعه می‌توان در تحقیقات و برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اسیدیته، آلل، هاپلوتایپ، رگرسیون، نشانگر ریزماهوره.

مقدمه

جو زراعی با نام علمی (*Hordeum vulgare* L.) یکی از مهمترین اعضای خانواده غلات می‌باشد و یکی از اولین گیاهان زراعی اهلی شده به‌شمار می‌رود (Por-Mohammad *et al.*, 2010). جو در تغذیه انسان‌ها نقش داشته و از مالت جو در کارخانجات نشاسته‌سازی، صنعت داروسازی، نوشابه‌های الکلی و غیرالکلی استفاده می‌شود، همچنین جو در تغذیه گاوهای شیری و گوساله‌های پرواری و حتی در تغذیه پرندگان به مقدار زیاد مورد مصرف قرار می‌گیرد (Daghaghele, 2016). علت استفاده از جو در تحقیقات ژنتیکی ماهیت دیپلوئیدی و داشتن تعداد کم کروموزوم، خودگشنی، دارا بودن کروموزوم‌های طویل، وجود تنوع ژنتیکی در بین ارقام زراعی و خویشاوندان وحشی، سهولت انجام دورگ‌گیری، سازگاری و انتشار وسیع جغرافیایی این گیاه است. ژنوم جو شامل ۷ جفت کروموزوم و اندازه ژنومی 5×10^9 جفت نوکلئوتید است (Shahin-nia *et al.*, 2014). اسیدپته خاک با شماری از خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی نامطلوب همراه است که باعث ایجاد مشکلاتی برای رشد گیاهان می‌شود. تغییرات شیمیایی وابسته به pH خاک، قابلیت دسترسی عناصر ضروری را محدود نموده و موجب افزایش قابلیت دسترسی فلزات سمی مثل آلومینیوم و منگنز می‌گردد (Khadem *et al.*, 2015). متأسفانه آمار دقیقی در مورد میزان خاک اسیدی در ایران وجود ندارد اما نزولات آسمانی، وجود ماسه سنگ و شن باعث اسیدی شدن خاک می‌شود که این عوامل در مناطق شمالی ایران علل خصوص استان‌های شمال کشور یافت می‌شود.

اولین اثر سمیت خاک‌های اسیدی جلوگیری از رشد ریشه‌ها و کوتاه شدن آن‌ها است. همچنین ممکن است سمیت کاتیون آلومینیوم در خاک اسیدی باعث محدودیت در جذب آب و مواد غذایی شود، که در نهایت باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Bian

2015, *et al.*). گیاه جو یک گونه بسیار حساس به سمیت آلومینیوم در بین گیاهان زراعی دانه‌ریز (غلات) است (Foy *et al.*, 1978; Zhao *et al.*, 2003). اما در میان واریته‌های این گیاه در مورد تحمل به آلومینیوم تفاوت وجود دارد (Wang *et al.*, 2006). تشخیص بین مقاومت و تحمل خصوصاً در مورد آلومینیوم اهمیت خاصی دارد، زیرا به‌وضوح مشخص شده که مکانیسم‌های دفع نظیر اجتناب و تشکیل کمپلکس (سمیت‌زدایی) آلومینیوم و محیط ریشه احتمالاً از اجزای مهم حیات گیاهان تحت شرایط تنش آلومینیوم است (Basra and Basra, 2001). تحمل به آلومینیوم توسط یک ژن و یا چندین QTL وابسته به مواد کنترل می‌شود (Wang *et al.*, 2006).

یک هاپلوتایپ نشان‌دهنده‌ی تغییرات در ناحیه‌هایی از ژنوم فرد است که در طی سال‌های متممادی ثابت باقی می‌مانند همچنین این نواحی در افراد مختلف متفاوت بوده و با استفاده از تفاوت بین این نواحی در ژنوم افراد می‌توان به بررسی تنوع هاپلوتایپی پرداخت (Tavalla, 2013). به‌نظر می‌رسد تنوع هاپلوتایپ‌ها طی نسل‌های متوالی، در نواحی معینی از ژنوم بدون تغییر باقی می‌ماند. این نواحی، ژنوم را به مجموعه‌ای از بلوک‌های هاپلوتایپی تفکیک می‌کنند (Mohammadi-nejad, 2008). بدین منوال حتی زمانی که راجع به ناحیه‌ای از کروموزوم‌ها بحث می‌گردد که بر اساس مکان‌یابی QTL‌ها حاوی ژن‌های تأثیرگذار در کنترل صفت‌ها می‌باشد، می‌توان بر مبنای مطابقت توالی میکروساتلایت‌های آن ناحیه مورد نظر در یک جمعیت با هاپلوتایپ والد دهنده به بررسی‌های مختلف پرداخت و با بررسی فوتوتیپی جمعیت تعیین نمود کدام هاپلوتایپ بیان بهتری از صفت مربوطه دارد و ضمن تعیین بهترین و مؤثرترین ترکیب آلی ناحیه QTL مورد نظر که برای انتخاب به کمک نشانگر بسیار ضروری و مفید می‌باشد، بر اساس سایر

این تحقیق مشخص شد که نشانگر ژنتیکی Cit7 نیز در توالی ژنتیکی HvMATE مستقر است و Cit7 می‌تواند راندمان انتخاب مولکولی واریته‌های جدید متحمل به اسیدیته خاک را در گیاه جو بهبود ببخشد.

Ivandic و همکاران (۲۰۰۲) با استفاده از ۳۳ نشانگر SSR و روش تجزیه ارتباط، نشانگرهای مرتبط با زمان گلدهی تحت رژیم‌های مختلف رشدی را در جو شناسایی کردند. Ganj- khalo *et al.* (2012) به منظور بررسی تفاوت‌های ژنتیکی و گروه‌بندی ۳۵ ژنوتیپ جو با استفاده از ۴۴ جفت نشانگر ریزماهواره و تجزیه ارتباط آن‌ها با چند صفت وابسته به تحمل یخ‌زدگی آزمایشی ترتیب دادند که نتیجه آن رابطه معنی‌دار ۶۲ آلل با ۱۲ صفت مورد ارزیابی بود. Meszaros *et al.* (2007) نیز برای نشان دادن تنوع ژنتیکی بین ۲۶ رقم جو از ۳۶ نشانگر RAPD و ۲۶ نشانگر SSR استفاده کردند و نشان دادند که نشانگرهای SSR به خوبی قادرند ژنوتیپ‌ها را از یکدیگر تفکیک کنند.

Degestan و همکاران (۲۰۱۶) از ۵۲ نشانگر SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی ۳۳ رقم جو وحشی و ۵۶ رقم جو بومی، که عمدتاً از مناطق مختلف چین جمع‌آوری شده بودند، و همچنین یک رقم زراعی استفاده کردند. در مجموع ۲۰۶ آلل در ۵۲ جایگاه ریزماهواره برای ۹۰ توده جو به دست آمد. تعداد آلل به ازای هر جایگاه ریزماهواره بین ۱ تا ۹ آلل با میانگین ۴ بود. که این میزان برای جوهای وحشی از صفر تا ۸/۱۳ با متوسط ۰/۵۴۳ و برای جوهای بومی در محدوده صفر تا ۰/۷۹۰ با متوسط ۰/۴۹ متغیر بود.

Tavalla و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند که تجزیه هاپلوتایپی ۲۲ ژنوتیپ برنج را در قالب ۱۶ هاپلوتایپ مختلف قرار داد و هاپلوتایپ شماره ۸ که شامل ژنوتیپ‌های دیلمانی و IR25571 بود، بیشترین شباهت را به ژنوتیپ Bala داشت. بنابراین، به نظر می‌رسد این ژنوتیپ‌ها همانند والد Bala واجد

هاپلوتایپ‌ها که فنوتیپ متحملی دارند ولی از نظر مطابقت با والد دهنده QTL هیچگونه مطابقتی ندارند پی برد که ژرم‌پلاسم‌های مورد نظر می‌توانند حاوی مکان ژنی‌های جدیدی برای صفت مورد نظر باشد (Sardouie-Nasab, 2011).

یکی از برنامه‌های کاربردی در مطالعه صفات کمی در دهه اخیر، مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی است. به طور کلی روش‌های به‌کار رفته در شناسایی و مکان‌یابی جایگاه صفات کمی به دو گروه اصلی نقشه‌یابی پیوستگی^۱ و نقشه‌یابی عدم تعادل لینکاژی^۲ یا نقشه‌یابی ارتباطی^۳ تقسیم می‌شوند (Agha-ali *et al.*, 2016). در تجزیه ارتباط رابطه بین ژنوتیپ و فنوتیپ گیاه مستقیماً برای شناسایی نواحی کروموزومی دخیل در کنترل صفت با استفاده از نامتعادل بودن پیوستگی موجود در جمعیت‌های طبیعی و مجموعه‌های ژرم‌پلاسم بررسی می‌شود (Buckler *et al.*, 2002). ریز ماهواره‌ها به دلیل ماهیت هم‌بارز و چندآلی، محتوای اطلاعات چندشکلی بالا و توزیع تصادفی در ژنوم، ابزارهای مناسبی برای مطالعات تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه‌های پیوستگی و نیز مکان‌یابی ژن‌ها محسوب می‌شوند (Snowdon and Fried, 2004; Langridge *et al.*, 2001).

در تحقیقی که Bian و همکاران (۲۰۱۵) بر روی جو انجام داده بودند تنها یک QTL برای همه پارامترهای مربوط به اسیدیته خاک شناخته شد. این QTL نقشه‌یابی‌شده به HvMATE معروف شد که محل قرارگیری آن بر روی کروموزوم H4 بود. این مارکر با تحمل به آلومینیوم مرتبط بود و تخمین زده شد که می‌تواند ۷۹٪ از فنوتیپ واریته‌هایی که متحمل به اسیدیته خاک هستند را توجیح کند. در

1. Linkage Mapping
2. Linkage Disequilibrium Mapping
3. Association Mapping

وزن هزار دانه، ارتفاع بوته، قطر ساقه، وزن کل، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، وزن برگ پرچم، طول پدانکل، وزن پدانکل، عملکرد (هربوته)، روز تا خروج سنبله، روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، طول بذر، عرض بذر، محیط، مساحت، ضریب گردی دانه، طول دانه تقسیم بر عرض دانه و قطر معادل دانه. پنج صفت وزن سنبله، وزن هزار دانه، وزن کل، وزن برگ پرچم و وزن پدانکل به وسیله ترازو شرکت AND مدل GF-600 و با دقت 0.001 گرم توزین گردید. ۶ صفت طول سنبله، طول ریشک، ارتفاع بوته، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم و طول پدانکل به وسیله متر اندازه‌گیری شد. مقادیر پنج صفت تعداد سنبلچه، تعداد دانه در سنبله، تعداد خوشه بارور در بوته، تعداد خوشه نابارور در بوته و تعداد سنبله در بوته به وسیله شمارش ثبت گردید. برای اندازه‌گیری هفت صفت مربوط به دانه یعنی طول دانه، عرض دانه، محیط دانه، مساحت دانه، ضریب گردی دانه، طول/عرض^۱ و قطر معادل دانه ابتدا از دانه‌های مربوط به هر ژنوتیپ عکس برداری صورت گرفت سپس عکس‌ها به وسیله نرم‌افزار MATLAB آنالیز و صفات مورد نظر ثبت گردید. این نرم‌افزار طول و عرض دانه را برحسب سانتی‌متر و سه صفت محیط دانه، مساحت دانه و طول/عرض را بر اساس دو صفت قبلی محاسبه نمود، صفت ضریب گردی دانه یعنی میزان گرد (کروی) بودن دانه و صفت قطر معادل دانه یعنی مقدار قطر دانه براساس محیط را نیز با استفاده از دو فرمول زیر (Lio Zhao *et al.*, 2005) محاسبه نمود.

$$\text{ضریب گردی دانه} = \frac{\text{محیط}^2}{\text{مساحت} \times 4 \times \pi} \quad (1)$$

$$\text{قطر معادل دانه} = \sqrt{\frac{\text{مساحت} \times 4}{\pi}} \quad (2)$$

QTL‌های ژنوتیپ‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی در این ناحیه ژنومی باشند و در صورت تایید نتایج، می‌توان از این ژنوتیپ‌ها در برنامه‌های به‌نژادی تحمل به تنش خشکی استفاده کرد. امروزه استفاده از پیوستگی بین نشانگرهای مولکولی و ژنهای کنترل‌کننده صفات کمی، فرایند اصلاح‌نباتات را تسریع کرده است، به طوری که به جای ارزیابی صفات، گزینش غیر مستقیم به کمک نشانگرهای پیوسته صورت می‌گیرد (Skokrpour, 2008). هدف از این آزمایش بررسی تنوع آلی، تجزیه ارتباط و هاپلوتایپ‌های نشانگرهای ریز ماهواره پیوسته به ژن‌های تحمل به اسیدیته خاک در جو بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که در سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه گنبدکاووس واقع در شرق استان گلستان در طول جغرافیایی 55° و 12 دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی 37° و 16 دقیقه شمالی و با 45 متر ارتفاع از سطح دریای آزاد انجام گرفت، از ۹۶ ژنوتیپ گیاه جو (جدول ۲) که از مرکز بین‌المللی پژوهش کشاورزی در مناطق خشک برای ایستگاه تحقیقات کشاورزی گنبد کاووس ارسال گردیده بود استفاده شد. ارزیابی‌های فنوتیپی این آزمایش در گلخانه که با دمای 25 درجه سانتیگراد و در قالب طرح آگمنت انجام گرفت. تمامی ۹۶ ژنوتیپ در گلدان‌هایی به ابعاد $150 \times 150 \times 150$ میلی‌متر حاوی یک کیلوگرم خاک اسیدی مربوط به شرق استان گیلان شهرستان لاهیجان که دارای pH معادل $5/8$ بود کشت گردیدند. آزمایش pH خاک در زمان برداشت نیز انجام گرفت و هیچ‌گونه تغییری در pH خاک مشاهده نشد. در این آزمایش بیست و هفت صفت فنوتیپی مورد ارزیابی قرار گرفتند که عبارت بودند از وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبلچه، تعداد دانه در سنبله، طول ریشک، تعداد سنبله بارور در بوته، تعداد سنبله نابارور در بوته، تعداد سنبله در بوته،

۶٪ و با دستگاه الکتروفورز عمودی مدل Clevear VS20 با ولتاژ ۱۸۰ ولت جداسازی گردید و باندهای حاصل از الکتروفورز به وسیله نیترات نقره رنگ آمیزی شد. امتیازدهی نوارهای حاصل بر روی ژل به صورت صفر و یک انجام شد. بدین صورت که ابتدا تعداد آلل‌های هر نشانگر با در نظر گرفتن کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی مشخص گردید. سپس برای هر آلل، هر ژنوتیپی که واجد نوار مورد نظر بود امتیاز یک و برای ژنوتیپی که واجد باند مورد نظر نبود امتیاز صفر اختصاص یافت. همچنین امتیازدهی بر اساس وزن مولکولی به کمک نشانگر اندازه نیز صورت گرفت تا ماتریس داده‌های ژنوتیپی برای تجزیه در نرم‌افزار Power Marker (Liu and Muse, 2005) نیز آماده گردد. از این نرم‌افزار جهت محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی مثل فراوانی آلی هر مکان ژنی، میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای هر مکان ژنی و شاخص PIC استفاده شد. PIC شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی برای اندازه‌گیری چندشکلی نشانگرها، همچنین توزیع آلل‌های جایگاه‌های مکان ژنی در جمعیت است (Tavalla, 2013).

$$PIC = 1 - \frac{\sum X_R^2}{N} \quad (3)$$

تجزیه خوشه‌ای و رابطه بین هر کدام از صفات ثبت شده با نشانگرهای SSR با استفاده از روابط رگرسیون و به کمک نرم‌افزار SPSS 22 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته شد.

مقدار عملکرد هم برای هر بوته به این نحو محاسبه شد، تعداد سنبله بارور در بوته × تعداد دانه در سنبله × وزن هر دانه (وزن هزار دانه تقسیم بر هزار). صفت قطر ساقه نیز به وسیله کولیس مدل Guanglu GB/T14899-94 اندازه‌گیری شد. همچنین برای دو صفت روز تا خروج سنبله و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک تعداد روزها از زمان سبز شدن هر ژنوتیپ و رسیدن آن ژنوتیپ به مرحله ۴۹ زادوکس برای روز تا خروج سنبله و رسیدگی کامل دانه‌ها و کاهش میزان رطوبت آن‌ها به حدود ۲۰ درصد (Mazaheri and Majnoun, 2010) (Hosseini, 2010) برای روز تا رسیدگی فیزیولوژیک ثبت و محاسبه گردید.

آزمایشات مولکولی نیز در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه گنبد کاووس انجام گرفت که به همین منظور از هر یک از ژنوتیپ‌ها و از بین برگ‌های جوان و عاری از بیماری نمونه برگی جدا گردید و با کمک نیتروژن مایع آسیاب شد. استخراج DNA نمونه‌ها طبق روش CTAB انجام گرفت (Saghai-Marooft *et al.*, 1994) و DNAهای استخراجی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس از هفت نشانگر ریزماهواری متصل به QTLهای بزرگ اثر مقاومت به اسیدیته خاک استفاده شد. لیست نشانگرها مورد استفاده به همراه منبع آن‌ها در جدول ۱ آمده است. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در حجم ۱۰ میکرولیتر و به وسیله دستگاه ترموسایکلر مدل iCycler BIORAD انجام گرفت. محصول حاصل شده از PCR در ژل اکریل‌آمید

جدول ۱. اطلاعات نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده

ژن یا نشانگر	توالی رفت	توالی برگشتی	منبع
HvMATE-21indel	GCTAGGGCTTGAAAAGTGTGG	GACGAAGTGTACGATGATGATGC	Bian <i>et al.</i> , 2015; Fujii <i>et al.</i> , 2012; Furukawa <i>et al.</i> , 2007
D0	GCCACGCCTTACAGTAAAGAAC	CCTAGCTATCTCAAGTTGGCTTAC	Bian <i>et al.</i> , 2015; Fujii <i>et al.</i> , 2012; Furukawa <i>et al.</i> , 2007
Cit7	GCAGCCAAGACCTTGAGAAAGC	GCCTGAACTAGCCCGAGAAATG	Bian <i>et al.</i> , 2015; Fujii <i>et al.</i> , 2012; Furukawa <i>et al.</i> , 2007
U12f + U11r	TCGTCAATCGCAACTCTCAGA	CATATCGTTTGTCTGATCACGC	Bian <i>et al.</i> , 2015; Fujii <i>et al.</i> , 2012; Furukawa <i>et al.</i> , 2007
D202tr	GTCTTCAACAGCATGATTAAGGTC	CAAACCTAGCACTATTCGGGTG	Bian <i>et al.</i> , 2015; Fujii <i>et al.</i> , 2012; Furukawa <i>et al.</i> , 2007
D4FF	CAATCCTTGATCAAAATGTGC	GGCCCTAAGATAGAAGCACAAG	Bian <i>et al.</i> , 2015; Fujii <i>et al.</i> , 2012; Furukawa <i>et al.</i> , 2007
Bmac310	CTACCTCTGAGATATCATGCC	ATCTAGTGTGTGTTGCTTCCT	Bian <i>et al.</i> , 2015; Fujii <i>et al.</i> , 2012; Furukawa <i>et al.</i> , 2007

جدول ۲. مشخصات مواد گیاهی مورد مطالعه

شماره	شجره	شماره	شجره
1	Rihane-03 As46//Avt/Aths Sel,02L-1AP-3AP-0AP	77	M112/TRADITION/6/V Morales CBSS04M00398T-7M-0Y-0M-0Y-3M-0AP
3	M65.157/M66.69.1//MONA/5/SUMBARD400/BERMEJO//SEN/3/ TOCTE/4/SUMBARD400/BERMEJO//SEN/3/SUMBARD400/6/G LORIA-BAR/COME//LIGNEE640/3/S.P-B CB06M00140T-A-1M- 0AP-0AP-0AP	78	V Morales /6/CHENG DU 89//PENCO/CHEVRON- BAR/3/CHAMICO/TOCTE//CONGONA
6	BU 38/6/P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/PETUNI A 1 CBSS07Y00873S-0AP-0AP	79	SARA1-BAR/CAPUCHONA 20 CBSS04M00095S-3M-2Y-3M-0Y-1M-0AP
7	FRESA/6/Vmorales CBSS05Y00350S-25Y-0Y-0M-0AP-0TR	81	BGCLM 157.MBV/ND16301 ICB09-1482-0AP-0TR- 0AP-0TR
8	CANELA/4/LEGACY/3/SVANHALS- BAR/MSEL//AZAF/GOB24DH CBSS05Y00214S-20Y-0M-0M-0AP-0TR	83	BISON 217.2/YURUZA ICB09-1508-0AP-0TR-0AP-0TR
9	LEGACY/CHAMICO/4/BREA/DL70//TOCTE/3/BREA/DL70//C ABUYA CBSS05B00011S-2M-0Y-0M-0AP-0TR	84	SAL-BAR/HE 6890 24.2//CANELA ICB09-1520-0AP-0TR-0AP-0TR
11	LA MOLINA 96/ESMERALDA CBSS05M00325S-8M-0Y-0M- 0AP-0TR	85	SICH84.80/ BISON 191 ICB09-1482-0AP-0TR-0AP- 0TR
13	LA MOLINA 96//LEGACY/7/Vmorales/6/LEGACY//PENCO/CHEVRON-BAR CBSS05M00680D-K-2M-0M-0AP-0TR	86	MEDUSA/DIAMANT-BAR//D1.72 ICB09-1550-0AP-0TR-0AP-0TR
16	LENT/BLLU CBSS04M00122S-11M-0Y-0M-0Y-1M-0AP	87	KAB68/D3-6/B61 ICB09-1551-0AP-0TR-0AP-0TR
17	SARA1-BAR/CAPUCHONA 20 CBSS04M00095S-3M-2Y-3M-0Y-2M-0AP	89	KAB50/3/DURRA/DC SEL//SHYRI ICB09-1568-0AP-0TR-0AP-0TR
18	P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/PETUNIA/1/6 /M9846//CCXX14.ARZ3/PACO/3/PALTONCBSS04B00043S- 3M-0Y-0M-0Y-2M-0AP	91	NE86954/3/AGAVE/CLN-B//ZARZA ICB09-1571-0AP-0TR-0AP-0TR
19	BRS195/ND19098-1 CBSS04M00242S-6M-0Y-0M-0Y-1M-0AP	92	STAB7/H95008.47 ICB09-1573-0AP-0TR-0AP-0TR
21	PFC9215/3/ZHEDAR#1/SHYRI//OLMO CBSS02Y00246S-0M-0M-6Y-1M-0Y	95	MADRE SELVA/Malt 1 ICB09-1309-0AP-0TR-0AP-0TR
23	LA MOLINA 96/LEGACY CBSS05Y00161S-22Y-0M-0Y-0M- 1AP	98	MAHIGAN/AC ROSSER H98074010 09/500009
24	BLLU/5/LEGACY/4/TOCTE//GOB/HUMAI10/3/ATAH92/ALELI CBSS05Y00168S-28Y-0M-0Y-0M-3AP	99	MAHIGAN/H87020005 H98075002 09/500010
25	BRS195/SCARLETT CBSS03Y00054S-1Y-1M-2Y-1M-0Y	101	BT554/MAHIGAN H98080003 09/500012
26	CANELA/E.ACACIA/DEFRA CBSS01M00022S-13M-2M-1Y- 1M-0Y	102	M91178002/MAHIGAN H98084002 09/500014
32	PENCO/CHEVRON-BAR//LACEY/3/LA MOLINA 96 CBSS06Y00481T-A-0Y-0AP-0TR	103	H97062/H97055 H98004006 09/500017
33	MERIT,B/IBTA80 CBSS06Y00091S-4Y-0M-0AP-0TR	104	H92013020Z/TR251 H98059001 09/500021
34	CANELA/ICARO CBSS06Y00123S-15Y-0M-0AP-0TR	105	H92013289Z/TR656 (H93003006) J02039005 09/500024
35	P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/PETUNIA/1/6 /KASOTA CBSS06Y00161S-20Y-0M-0AP-0TR	106	H98075/H97094 H99021004 09/4S0002
37	P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA/1/6/CIRU	107	H87020011/MAHIGAN H99085005 09/4S0009
41	FURAT 3/MALT 1 ICB09-1320-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	108	AC ROSSER/KASOTA H99089002 09/4S0010
42	CAPUL/CABUYA/Malt 2 ICB09-1330-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP- 0TR	109	MAHIGAN\H01086\\VIVAR H03006023 09/4S0011
43	Atahualpa/DD-21//Malt 2 ICB09-1332-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP- 0TR	111	H02019/VIVAR H03010002 09/4S0013
44	ATAH92/GOB//MERIT,B ICB09-1383-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP- 0TR	113	HB510/MAHIGAN H99029008 09/4S0020
46	TOCTE//GOB/HUMAI10/3/ATAH92/ALELI/4/GRIT ICB09-1399-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	114	H03006//PENCO/CHEVRON G03020007 09/4S0020
47	ATAH92/GOB//KEEL ICB09-1401-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP- 0TR	115	H92082138X/TR704 J99037005 09/4T0003
48	BREA/DL70//3*CABUYA/3/BREA/DL70//3*TOCTE ICB09-1408-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	116	TR704/TR243 J99043004 09/4T0006
49	BREA/DL70//CABUYA/3/6B89.2027/CHAMICO ICB09-1410-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	117	TR704/H92013020Z J99045005 09/4T0009
54	BREA/DL70//3*TOCTE/5/P.STO/3/ LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1 ICB09- 1424-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	118	H92066145/L94223 J99047001 09/4T0010
57	CALI92/ROBUST/6/P.STO/3/LBIRAN//UNA80//LIGNEE640/5/B LLU/5/ PETUNIA 1 ICB09-1449-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	119	H92013020Z/L94223 J99049001 09/4T0011
58	TOCTE/ND16301 ICB09-1451-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	121	H96106/JAGER H00010004 09/3S0001

ادامه جدول ۲. مشخصات مواد گیاهی مورد مطالعه

شجره	شجره	شجره	شجره
59	CALI92/ROBUST//ND16301 ICB09-1452-0AP-0TR-0AP-0TR- 0AP-0TR	122	CANELA/BICHY2000 CBSS04M00013S-3M-0Y-0M-0Y-2M-0AP
62	H00013003 09/3S0002 H99085//VIVAR/NISKA	123	LENT/BLLU CBSS04M00122S-11M-0Y-0M-0Y-2M-0AP
64	V Morales/6/BRS180 CBSS04M00026S-4M-0Y-0M-0Y-4M-0AP	125	MERIT,B//E.QUEBRACHO/DEFRA/3/CANELA CBSS01M00375T-0TOPY-30M-1M-1Y-1M-0Y
65	V Morales/6/M9846//CCXX14.ARZ3/PACO/3/PA LTON CBSS04B00043S-3M-0Y-0M-0Y-1M-0AP	127	P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1/6/GLORIA-BAR/COPAL CBSS04Y00096S-2Y-2M-0Y-0M-0Y
67	LENT/LACEY CBSS04M00117S-0M-0Y-0M-0Y-3M-0AP	129	P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1/6/LEGACY//PENCO/CHEVRON-BAR CBSS04Y00075S-7Y-1M-0Y-0M-0Y
69	V Morales/6/M1117/LEGACY/3/SVANHALS- BAR/MSEL//AZAF/GOB24DH CBSS04M00394S-0M-0Y-0M-0Y-3M-0AP	131	TRADITION/6/P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU/5/ PETUNIA 1/7/LEGACY// PENCO/CHEVRON-BAR CBSS04M00295T-2M-0Y-0M-0Y-2M-0AP
70	V Morales P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLL U/5/ PETUNIA_1 CBSS97M00850T-G-2M-1Y-2M-0Y	132	GLORIA-BAR/COPAL//PM5/BEN/3/SEN/4/ PETUNIA 1/5/ PETUNIA 2// PENCO/CHEVRON-BAR /4/ PETUNIA 2/3/CHAMICO/TOCTE//CONGONA CBSS04B00032S-0M-0Y-0M-0Y-1M-0AP
72	SHYRI/GRIT//FNC1 CBSS04M00068S-3M-0Y-0M-0Y-2M-0AP	133	M112/CHAMICO/6/P.STO/3/LBIRAN/UNA80//LIGNEE640/4/BLLU /5/ PETUNIA 1 CBSS04M00432T-5M-0Y-0M-0Y-1M-0AP
73	V Morales/6/ZIGZIG//CUCAPAH/PUEBLA CBSS04B00046S-7M-0Y-0M-0Y-2M-0AP	134	PUEBLA/CARDO//TOCTE/3/FALCON-BAR CBSS04M00150S-0M-0Y-0M-0Y-2M-0AP
74	V Morales /6/ LEGACY//PENCO/CHEVRON- BAR CBSS04M00029S-2M-0Y-0M-0Y-2M-0AP	135	LIMON/BICHY2000//DEFRA/DESCONOCIDA-BAR CBSS05Y00036S-36Y-0M-0Y-0M-4AP
75	BICHY2000//GOB/HUMAI10 CBSS04M00222S-8M-0Y-0M-0Y-1M-0AP	136	SVANHALS-BAR/MSEL//AZAF/GOB24DH/3/NE167/CLE176 CBSS05Y00056S-13Y-0M-0Y-0M-4AP
76	PENCO/CHEVRON-BAR/6/ V Morales CBSS04M00214S-19M-0Y-0M-0Y-3M-0AP	138	BBSC/CONGONA/5/LEGACY/4/TOCTE//GOB/HUMAI10/3/ATAH 92/ALELI CBSS05Y00175S-15Y-0M-0Y-0M-2AP

نتایج و بحث

بررسی تنوع آلی

شکل نیز ۰/۴۴۱ بود. مقدار تنوع ژنی نیز بین ۰/۲۹۸ الی ۰/۷۴۹ با میانگین ۰/۴۹۰ بود. که نشانگر HvMATE-21indel دارای بیشترین مقدار و نشانگر Cit7 دارای کمترین مقدار در این بخش بود. تعداد آل مؤثر نیز میانگینی برابر با ۰/۶۲۸ دارد که بیشترین مقدار مربوط به نشانگر Cit7 بوده و نشانگر HvMATE-21indel کمترین مقدار را در بین دیگر نشانگرها دارا است. نشانگرهایی که دارای آمارهای تنوع بالاتری هستند از قدرت تفکیک بیشتری برخوردار می‌باشند و احتمالاً بتوان از آنها در غربال ژنوتیپ‌ها بهره بیشتری برد (Tavalla, 2013). از این‌رو شاید بتوان این نشانگرها را به عنوان نشانگرهای آگاهی بخش در دیگر آزمایشات اصلاح بذر مربوط به بررسی تحمل به اسیدیته خاک استفاده نمود.

میانگین تعداد آل مؤثر، ارزش pic و تنوع ژنی مشاهده شده در جایگاه‌های ریزماهوره، بیانگر کارآمدی نشانگرهای استفاده شده برای تمایز ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و وجود تنوع بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه است (Roder *et al.*, 1998). از این‌رو تجزیه اطلاعات به‌دست آمده از نشانگرها بیانگر وجود ۱۹ آل چند شکل بود (جدول ۳) میانگین تعداد آل برای هر نشانگر ۲/۷۱ بود که بیشترین تعداد مربوط به نشانگر Do و Cit7 با چهار آل بود. نتایج محتوی اطلاعات چندشکل (PIC) بالاترین مقدار را در نشانگر HvMATE-21indel و کمترین مقدار را در نشانگر Cit7 نشان می‌دهد، میانگین محتوی اطلاعات چند

جدول ۳. تنوع نشانگرهای ریزماهوره در ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه در این پژوهش

Marker	PIC	Major.Allele.Frequency	Na	Gene Diversity
HvMATE-21indel	0.705	0.305	2	0.749
Do	0.352	0.707	4	0.427
U12f+U11r	0.290	0.787	2	0.340
D202rr	0.518	0.564	2	0.584
Cit7	0.265	0.824	4	0.298
D4ff	0.292	0.816	3	0.316
Bmac310	0.664	0.398	2	0.714
Mean	0.441	0.628	2.71	0.490

تجزیه ارتباط

جدول ۴ نشان‌دهنده نتایج حاصل از بررسی تجزیه ارتباط بین صفات اندازه‌گیری شده با نشانگرهای به کار رفته در آزمایش است. طبق نتایج به دست آمده آلل Do-D با دخیل بودن در کنترل هشت صفت بیشترین دخالت را در این امر در بین دیگر آلل‌ها داشته است. آلل‌های Cit7-B، Do-A، D202rr-C و Cit7-C نیز در مدل رگرسیونی بیش از ۴ صفات وجود داشتند. شناسایی مکان‌های مشترک می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی دخیل در شناسایی برای کنترل این صفات باشد (Jun et al., 2008).

از میان ۲۰ آلل مؤثر بر صفات مورد ارزیابی، ده آلل با صفات مربوط به عملکرد و اجزای عملکرد مرتبط هستند که آلل Do-D با اثرگذاری بر روی سه صفت تعداد دانه در سنبله، تعداد خوشه بارور و عملکرد (در بوته) دارای بیشترین اثرگذاری بر روی صفات مربوط به این بخش بود که با استفاده از مکان‌های مرتبط با صفات زراعی از جمله اجزای عملکرد می‌توان صفات مورد نظر را از طریق تلاقی‌های فی‌مابین به یک ژنوتیپ فاقد آن صفت انتقال داد (Agha-ali et al., 2016). آلل Do-B نیز با $R^2 = 39/5$ برای صفت تعداد سنبله در بوته بالاترین R^2 در بین آلل‌های دخیل در صفات مربوط به عملکرد و اجزای عملکرد را دارا بود. همچنین آلل D202rr-C در مدل رگرسیونی صفت روز تا خروج سنبله R^2 برابر با ۹۹/۸ را از خود نشان داد که دارای بیشترین مقدار R^2 در بین تمام آلل‌ها بود.

تجزیه خوشه‌ای

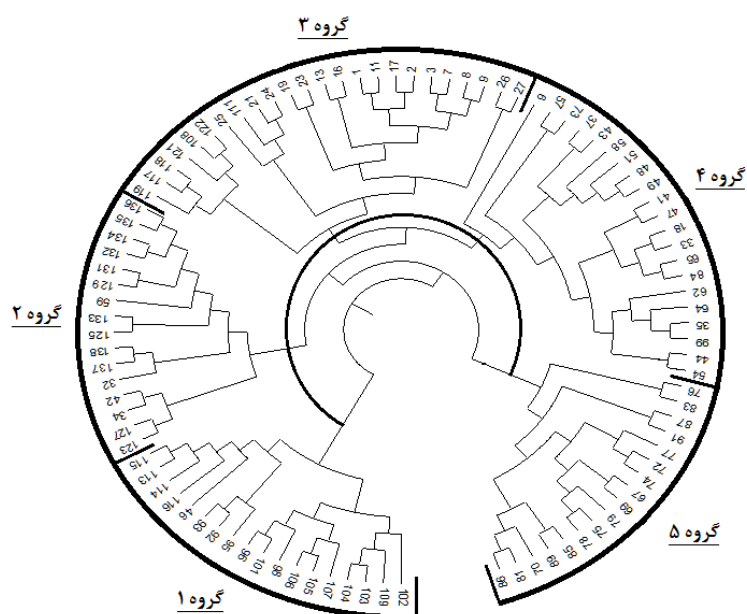
تجزیه خوشه‌ای برای پیدا کردن دسته‌های واقعی و همچنین کاهش تعداد داده‌ها می‌باشد. به عبارت دیگر هدف شناسایی تعداد کمتری از گروه‌ها می‌باشد. بنابراین گروه‌هایی که شباهت بیشتری با یکدیگر دارند در یک گروه قرار داده می‌شوند و می‌توان گفت که تجزیه خوشه‌ای اصولی‌ترین روش برای برآورد شباهت بین افراد در یک مجموعه است (Owlazadeh, 2017). تجزیه کلاستر به روش UPGMA و به کمک فاصله جاکارد به عنوان معیار فاصله و با استفاده از داده‌های ژنوتیپی انجام گرفت. ژنوتیپ‌های مورد آزمایش (شکل ۱) در پنج گروه تقسیم‌بندی شدند که این گروه‌ها به ترتیب شامل ۱۸، ۱۶، ۲۴، ۲۱ و ۱۷ ژنوتیپ در زیر شاخه خود بودند. میانگین عملکرد ژنوتیپ‌های حاضر در گروه‌ها به ترتیب ۰/۸۵۲، ۰/۷۱۸، ۰/۵۹۹، ۰/۸۸۵ و ۰/۶۰۹ گرم بود؛ همچنین میانگین صفت ارتفاع بوته برای ژنوتیپ‌های حاضر در گروه‌ها به ترتیب ۳۶/۶۱، ۳۸/۷۵، ۳۸/۹۱، ۳۹/۵۴ و ۳۷/۱۶ سانتی‌متر و برای صفت روز تا خروج سنبله به ترتیب ۱۲۴/۵۶، ۱۲۶/۲۰، ۱۲۷/۲۷، ۱۲۶/۰۵ و ۱۲۵/۹۴ روز پس از سبز شدن بود. گروه یک دومین گروه از لحاظ عملکرد و بهترین گروه در دو صفت دیگر در میان این سه صفت مهم بود می‌تواند نشان‌دهنده این موضوع باشد که ۱۸ ژنوتیپ حاضر در این گروه قابلیت مقاومت به خاک‌های اسیدی را دارا هستند و می‌توانند به عنوان لاین‌های مقاوم به این تنش در نظر گرفته شوند، البته برای به دست آوردن اطمینان بیشتر باید آزمایشات تکمیلی صورت گیرد.

جدول ۴. نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای SSR و صفات مختلف

صفات	عرض از مبدا	آلل	ضریب رگرسیون	خطای استاندارد	آماره F	ضریب تبیین
وزن سنبله	0.695	Do-D	0.438**	0.158	6.408*	9.1
		Cit7-C	0.673*	0.265	6.705**	17.5
طول سنبله	4.435	Do-D	1.140**	0.337	11.448**	15.2
تعداد سنبلچه	7.020	Do-D	3.207**	0.724	11.435**	15.2
		Cit7-D	-2.241**	0.720	8.604**	21.5
		D4ff-B	-1.397**	0.479	7.590**	26.9
		D202rr-A	-1.163*	0.549	7.135**	31.9
تعداد دانه در سنبله	18.139	Do-D	9.533*	3.635	8.584**	11.8
		D4ff-A	-5.322*	2.556	6.684**	17.5
طول ریشک	10.129	Cit7-D	4.374**	1.489	8.632**	11.9
خوشه بارور	3.492	Do-D	-1.158*	0.554	4.374*	6.4
خوشه نابارور	0.58	D4ff-C	0.529**	0.138	13.591**	17.5
		HvMATE-21indel-C	-0.471**	0.138	11.345**	26.5
		Do-A	0.261*	0.121	9.559**	31.6
تعداد سنبله در بوته	1.509	D202rr-C	1.917**	0.387	20.234**	24
		Bmac310-A	-0.426**	0.1380	16.913**	34.9
		Do-B	-0.246*	0.113	13.497**	39.5
وزن هزار دانه	35.978	D202rr-B	6.906*	2.857	2.598	3.9
		D4ff-A	6.586*	2.781	3.526*	10.1
		Cit7-C	13.522*	6.434	3.951*	16
عملکرد (هر بوته)	0.695	D202rr-C	1.322**	0.380	10.739**	14.4
		Do-D	0.379*	0.161	8.502**	21.3
ارتفاع بوته	39.624	Do-C	-4.105 ^{ns}	2.806	2.141 ^{ns}	3.2
قطر ساقه	0.382	D202rr-C	0.418**	0.098	17.843**	21.8
		HvMATE-21indel-A	-0.082*	0.032	12.978**	29.2
وزن کل	4.128	Do-F	0.634 ^{ns}	0.381	2.77 ^{ns}	4.1
طول برگ پرچم	5.893	Cit7-B	-1.066**	0.370	8.309**	11.5
عرض برگ پرچم	0.519	Cit7-B	-0.134**	0.041	10.694**	14.3

ادامه جدول ۴. نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای SSR و صفات مختلف

صفات	عرض از مبدا	آلل	ضریب رگرسیون	خطای استاندارد	آماره F	ضریب تبیین
وزن برگ پرچم	0.012	Cit7-B	-0.005**	0.002	10.219**	13.8
		Cit7-C	0.009*	0.004	7.605**	19.4
طول پدانکل	11.549	D4ff-B	1.913*	0.816	3.944 ^{ns}	5.8
		Cit7-D	2.847*	1.396	4.15*	11.6
وزن پدانکل	0.050	HvMATE-21indel-C	0.044*	0.020	4.954*	7.2
روز تا خروج سنبله	126.369	D202rr-C	1000.631**	5.352	34961.220**	99.8
روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	153.595	Cit7-B	2.530 ^{ns}	1.364	3.439 ^{ns}	5.1
طول بذر	8.406	U12f+U11r-A	0.468*	0.202	17.653**	21.6
		D202rr-A	-0.642**	0.209	14.290**	31.2
		Do-D	0.722*	0.287	12.274**	37.3
		Cit7-C	-1.057*	0.493	10.890**	41.7
عرض بذر	2.520	U12f+U11r-A	0.285**	0.065	9.558**	13
		Do-A	-0.232**	0.066	10.748**	25
		Cit7-E	-0.456*	0.228	8.839**	30
محیط	24.414	U12f+U11r-B	-2.474	0.538	12.110**	15.9
		Do-A	-1.902	0.548	13.114**	29.4
مساحت	16.298	U12f+U11r-A	3.097**	0.727	19.377**	23.2
		Do-A	-1.775*	0.720	16.544**	34.4
		D202rr-A	-1.664*	0.779	13.175**	38.9
ضریب گردی دانه	2.636	Cit7-E	1.015*	0.437	4.123*	6.1
		Do-B	0.215*	0.135	4.478*	12.4
		D4ff-C	0.492**	0.165	4.614**	18.3
		Do-A	-0.334*	0.158	4.776**	23.8
طول / عرض	3.116	D202rr-C	0.774*	0.320	5.148*	7.4
		Do-D	0.296*	0.136	5.089**	13.9
قطر معادل دانه	4.696	U12f+U11r-B	-0.405**	0.095	19.238**	23.1
		HvMATE-21indel-C	-0.263*	0.103	15.693**	33.3
		D202rr-B	0.262*	0.106	13.379**	39.3



شکل ۱. خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره متصل به QTL‌های کنترل‌کننده تحمل به اسیدیته خاک روی کروموزوم ۷ بر اساس ضریب جاکارد و روش گروه‌بندی UPGMA

هاپلوتایپی

پس از بررسی الگوهای بانندی تشکیل شده بر روی ژل اکریل‌آمید به منظور ارزیابی هاپلوتایپی نشانگرهای ریز ماهواره QTL بزرگ اثر واقع بر روی کروموزوم شماره هفت جو از هفت نشانگر متعلق به این ناحیه که در نزدیک‌ترین مکان نسبت به آن قرار گرفته‌اند، بر روی ۹۶ ژنوتیپ مورد مطالعه، استفاده شد. ژنوتیپ‌های مورد استفاده از لحاظ مطابقت آلی با یکدیگر گروه‌بندی شدند (جدول ۵)؛ از آن‌جاکه یکی از اهداف عمده اصلاح جو افزایش عملکرد دانه است. به همین دلیل میزان عملکرد هر ژنوتیپ برابر با تحمل آن ژنوتیپ در مقابل تنش خشکی در نظر گرفته شد. میزان عملکرد (در بوته) هر گروه هاپلوتایپ به عنوان معیار سنجش مقاومت به اسیدیته خاک قرار گرفت.

که در طی این بررسی‌ها ۴۱ گروه هاپلوتایپ تشکیل شد که از این تعداد ۲۸ هاپلوتایپ به صورت منفرد و ۱۳ گروه دیگر دارای دو و یا بیش از دو ژنوتیپ بودند. که در این میان گروه هاپلوتایپ اول با هشت ژنوتیپ دارای بیشترین زیر مجموعه بود. گروه ۱۶ که

شامل ژنوتیپ ۶ بود با عملکرد ۲/۰۱۷ گرم در هر بوته بیشترین عملکرد و مقاومت در برابر اسیدیته خاک را از خود نشان داد که می‌توان از آن به عنوان مقیاس در آزمایشات بعدی استفاده نمود. همچنین تنها گروه ۱۶ هاپلوتایپ دارای آلل D202rr-C در ترکیب آلی خود بود که این آلل در نتایج به‌دست آمده از تجزیه ارتباط بر روی صفت عملکرد مؤثر بود که نتایج به‌دست آمده در بخش تجزیه هاپلوتایپ را تایید می‌کند. برای صفت ارتفاع بوته گروه‌های هاپلوتایپ ۱۹ (ژنوتیپ ۳) و ۴۱ (ژنوتیپ ۸۶) به ترتیب با ارتفاع ۴۷/۷ و ۴۷/۱ سانتی‌متر دارای بیشترین ارتفاع و گروه هاپلوتایپ ۳۶ (ژنوتیپ ۱۲۱) با ارتفاع ۲۴ سانتی‌متر کمترین ارتفاع را از خود نشان دادند. همچنین نتایج هاپلوتایپی برای صفت روز تا خروج سنبله نشان داد که گروه هاپلوتایپ ۲۱ (ژنوتیپ ۵۹) با ۱۴۱ روز و گروه هاپلوتایپ ۲۵ (ژنوتیپ ۹۵) با ۱۱۱ روز به ترتیب دارای بیشترین و کمترین زمان را برای خروج سنبله دارا هستند.

مقایسه آلل‌های دو هاپلوتایپ ۱۱ و ۱۸ که بعد از هاپلوتایپ ۱۶ دارای بیشترین عملکرد هستند نشان داد این گروه‌ها به ترتیب ۵ و ۴ آلل مشترک با این

نشان داد که دو گروه هاپلوتایپ ۱۶ (ژنوتیپ ۶) و ۳ (ژنوتیپ‌های ۴۱، ۴۳، ۴۴ و ۴۷) به ترتیب با عملکرد ۲/۰۱۷ و ۱/۱۹۲ در گروه ۴ تجزیه کلاستر قرار گرفتند. همچنین دو گروه هاپلوتایپ ۱۸ (ژنوتیپ ۱۱۵) و ۱۱ (ژنوتیپ‌های ۱۰۷ و ۱۰۴) به ترتیب با عملکرد ۱/۳۸۷ و ۱/۳۴۶ در گروه ۱ تجزیه کلاستر قرار گرفتند. طبق نتایج تجزیه خوشه‌ای گروه ۴ با میانگین ۰/۸۸۵ گرم بر بوته و گروه ۱ با میانگین ۰/۸۵۲ گرم بر بوته دارای بیشترین عملکرد در میان گروه‌ها بودند که تطابق بین اطلاعات تجزیه کلاستر و تجزیه خوشه‌ای را نشان داد.

گروه هاپلوتایپی دارند. این مقایسه برای هاپلوتایپ‌های ۳۰ و ۲۱ با هاپلوتایپ ۱۴ که کمترین عملکرد را دارا بود نشان داد به ترتیب ۴ و ۳ آلل مشترک دارند و از این حیث اطلاعات به دست آمده توجیه‌پذیر بودند. اما میان نتایج هاپلوتایپی صفت‌های مختلف همپوشانی مشخصی ملاحظه نشد. این موضوع می‌تواند به این علت باشد که عملکرد دانه جو حاصل ضرب اجزای عملکرد یعنی تعداد دانه در سنبله، تعداد سنبله در واحد سطح و وزن دانه است (Zhu et al., 1999) و عملکرد یک گیاه به وسیله صفت‌ها و در نتیجه آلل‌های مختلفی کنترل می‌شود. مقایسه بین تجزیه هاپلوتایپی و تجزیه کلاستر

جدول ۵. گروه‌های هاپلوتایپی برای نشانگرهای متصل به ژن‌های تحمل به اسیدیته خاک در ژرم‌پلاسما مورد مطالعه

HvMATE-21indel	C	B	B	B	A	B	C	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	
Do	A	E	D	C	C	B	A	B	C	C	C	C	B	B	A	A	A	A	A	A	
U12f+U11r	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	
D202rr	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	C	A	A	A	A	B	
Cit7	A	A	A	B	B	B	D	A	B	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	A	
D4ff	C	B	B	B	A	B	A	B	B	B	A	B	B	C	B	B	C	A	C	B	
Bmac310	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	
Haplotype no	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
عملکرد (بوته)	0.791	0.909	1.192	1.020	0.586	0.691	0.530	0.508	0.948	0.529	1.346	0.648	0.625	0.018	0.479	2.01	0.442	1.387	0.505	0.509	0.256
ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	43.35	40.05	41.25	35.13	45.65	45.65	39.7	37.75	42.35	37.75	36.55	32.75	34	30.2	41.3	39	42.1	39.6	47.4	28.9	40.3
روز تا خروج سنبله	129.3	120.2	127.5	125.33	123	123	127	122.5	128	128	127.5	119.5	127.5	125	129	127	129	125	119	130	141

1: G 8, G7, G11, G23, G13, G 9, G16, G17, 2: G48, G54, G49, G57, 3: G47, G44, G43, G41, 4: G127, G129, G131, 5: G119, G118, G117, 6: G137, G138, G32, 7: G114, G113, 8: G135, G136, 9: G79, G78, 10: G67, G69, 11: G107, G104, 12: G75, G72, 13: G70, G85, 14: G21, 15: G35, 16: G6, 17: G19, 18: G115, 19: G3, 20: G65, 21: G59

ادامه جدول ۵. گروه‌های هاپلوتایپی برای نشانگرهای متصل به ژن‌های تحمل به اسیدیته خاک در ژرم‌پلاسما مورد مطالعه

HvMATE-21indel	A	A	A	A	A	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
Do	B	B	B	A	A	C	B	E	E	D	D	C	C	B	C	C	C	C	C	B
U12f+U11r	B	A	A	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B
D202rr	A	B	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A
Cit7	B	B	B	A	A	B	B	A	A	D	B	D	C	D	E	B	A	A	A	C
D4ff	B	B	B	A	B	A	C	B	B	B	B	B	A	B	B	A	A	C	B	A
Bmac310	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	C	A	A	A	B	A	A	A	B
Haplotype no	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
عملکرد (بوته)	0.420	0.401	0.570	0.574	0.352	0.621	0.609	0.930	0.215	0.662	1.010	0.503	0.605	0.801	0.306	0.540	0.960	0.627	0.880	1.100
ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	41	31.4	35.4	40.3	39.9	38.5	40.7	38.6	30.5	34.7	38.1	33.5	28.3	45.5	24	35.7	31.4	31.2	32.2	47.1
روز تا خروج سنبله	126	130	125	111	121	125	127	127	130	129	130	129	130	125	132	127	131	125	127	129

22: G89, 23: G132, 24: G64, 25: G95, 26: G91, 27: G106, 28: G24, 29: G73, 30: G58, 31: G133, 32: G125, 33: G102, 34: G77, 35: G134, 36: G121, 37: G109, 38: G26, 39: G37, 40: G98, 41: G86.

REFERENCES

- Aghaali Z, Darvishzadeh R, Goodarzi F (2016) Association analysis of morphological traits in castor (*Ricinus communis* L.) by using ISSR markers. Iranian J. Rangel. Plant Breed. Genet. Res. 24: 79-91.
- Basra AS, Basra RK, Translated by. Kafi M, Mahdavi-Damghani A (2001) Mechanisms Environmental Stress Resistance in Plants. Ferdowsi University Press.
- Bian M, Jin X, Broughton S, Zhang XQ, Zhou G, Zhou M, Zhang G, Sun D, Li C (2015) A new allele of acid soil tolerance gene from a malting barley variety. BMC Genet. 16: 1-11.
- Buckler ES, Thornsberry JM (2002) Plant molecular diversity and applications to genomics. Curr. Opin. Plant Biol. 5: 107-111.
- Daghagheleh R (2016) Mapping of genes controlling morpho-phenological traits in F3 and F4 barley population caused Becher×Kavir cross using SSR, ISSR, IRAP and iPBS markers. Dissertation, University of Gonbad Kavous.
- Degestan S, Izadi-dogonchi M, Asghari A, Sadeghzade B (2016) Genetic Diversity of Barley (*Hordeum vulgare*) Genotypes Using Microsatellite Markers and Association Analysis of Traits Related to Drought Compatibility. J. Plant. Seed Breed. 1: 67-82.
- Foy CD, Chaney RL, White MC (1978) The physiology of metal toxicity in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 29: 511-66.
- Ganj-khanlo A, Mohammadi SA, Moghaddam M, Ghasemi-golezani k, Shakiba MR, Yosefi A (2012) Genetic Diversity in Barley as Revealed by Microsatellite Markers and Association Analysis of These Markers by Traits Related to Freezing Tolerance. J. Plant. Seed Breed. 1: 101-114.
- Ivandic VCA, Hackett E, Nevo R, Keith WTB, Forster TBP (2002) Analysis of simple sequence repeats (SSRs) in wild barley from the Fertile Crescent: associations with ecology, geography and flowering time. Plant Mol. Biol. 48: 511-527.
- Jun TH, Van K, Kim MY, Lee HS, Walker DR (2008) Association analysis using SSR markers to find QTL for seed protein content in soybean. Euphytica. 162: 179-191.
- Khadem A, Golchin A, Mashhadi-Jafarlo A, Zare E, Naseri E (2015) Effect of severe acidification of soil on soil nutrient uptake and corn growth. J. Agric. 107: 1-7.
- Langridge PE, Lagudah S, Holton TA, Appels R, Sharp PJ, Chalmers KJ (2001) Trends in genetic and genome analyses in wheat: A review. Aust. J. Agric. Res. 52: 1043-1077.
- Lio-Zhao Y, Cheng F, YingYi B, Rao-Xiu Q (2005) Identification of rice seed varieties using neural network. J. Zhejiang Univ. Sci. B. 6: 1095-1100.
- Liu K, Muse SV (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics. 21: 2128-2129.
- Mazaheri D, Majnoun-hosseini N (2010) Fundamental of Agronomy. Tehran University Press.
- Meszaros K, Karsai I, Kuti C, Banyai J, Lang L, Bedo Z (2007) Efficiency of different marker systems for genotype fingerprinting and for genetic diversity studies in barley (*Hordeum vulgare* L.). S. Afr. J. Botany. 73: 43-48.
- Mohammadi-nejad GA, Arazani AM, Rezai RK, Gregorio SGB (2008) Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the saltol QTL. Afr. J. Biotechnol. 7: 730-736.
- Owlazadeh E (2017) Association analysis of Agronomic traits of barley germolasm using iPBS markers. Dissertation, University of Gonbad Kavous.

- Por-mohammad A, Moghadam M, Khosro-shahali M, Mohammadi SA, Yosufi A (2010) Study of Genetic Diversity by RAPD Markers and Identification of Informative Markers for Grain Yield and its Components in Hulless Barley Genotypes. *J. Plant. Seed. Breed.* 26: 253–267.
- Roder MSV, Korzun K, Wendehake J, Plaschke MH, Tixier PL, Ganal MW (1998) A microsatellite map of wheat. *Genet.* 149: 2007–2023.
- Saghai-Maroofof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994) Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 4566–5570.
- Sardouie-Nasab S (2011) Haplotype Diversity at QTLs related to Salt tolerance in Wheat (*Triticum aestivum* L.). dissertation, University Razi.
- Shahin-nia F, Rezaei AM, Seid Tabatabaei BE, Mohammadi SA (2014) QTL Mapping of Yield and Yield Components in Barley Lines. *J. Plant. Seed. Breed.* 30: 85–101.
- Shokrpour M, Mohammadi SA, Moghaddam M, Ziai SA, Javanshir A (2008) Analysis of morphologic association, phytochemical and AFLP markers in milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Iranian J. med. aromat. Plants.* 24: 278–292.
- Snowdon RJ, Fried W (2004) Molecular markers in Brassica oilseed breeding, current status and future possibilities. *Plant Breed.* 123: 1–8.
- Tavalla R, (2013) Haplotype Diversity at QTLs related to drought tolerance on chromosome 9 of rice (*Oryza sativa* L.). dissertation. University of Gilan.
- Wang JP, Raman H, Zhang GP, Mendham N, Zhou MX (2006) Aluminium tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.): physiological mechanisms, genetics and screening methods. *J Zhejiang Univ. Sci. B.* 7: 769–787.
- Zhao Z, Ma JF, Sato K, Takeda K (2003) Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta.* 217: 794–800.
- Zhu H, Bricero G, Dovel R, Hayes PM, Liu BH, Ullrich SE (1999) Molecular breeding for grain yield in barley: An evaluation of QTL effects in a spring barley. *Theor. Appl. Genet.* 98: 772–779.