

انتقال پذیری و چندشکلی نشانگرهای ریزماهوره جو در ارزیابی روابط فیلوژنتیک جنس‌های
تریتیکوم (*Triticum*) و هوردئوم (*Hordeum*)
Transferability and polymorphism of barley SSR markers in analysis of
phylogenetic relationships of *Triticum* and *Hordeum* genera

خاطره علیپور^۱، سیدابوالقاسم محمدی^۲، محمد مقدم^۳ و بهزاد صادق‌زاده^۴

چکیده

علیپور، خ. س. ا. محمدی، م. مقدم و ب. صادق‌زاده. ۱۳۹۵. انتقال پذیری و چندشکلی نشانگرهای ریزماهوره جو در ارزیابی روابط فیلوژنتیک جنس‌های تریتیکوم (*Triticum*) و هوردئوم (*Hordeum*). مجله علوم زراعی ایران. ۱۸(۲): ۱۱۹-۱۰۴.

جنس‌های تریتیکوم و هوردئوم، دو جنس از طایفه تریسه (Triticeae) با گونه‌های زراعی مهم می‌باشند. ارزیابی روابط فیلوژنتیک گونه‌های زراعی و خویشاوندان وحشی این جنس‌ها برای استفاده بهینه از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی ضروری است. در این آزمایش روابط فیلوژنتیک چهار گونه از جنس تریتیکوم و سه گونه از جنس هوردئوم با استفاده از ۱۵۰ جفت آغازگر ریزماهوره جو مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در مجموع ۴۹ جفت آغازگر در هر دو جنس و ۱۹ جفت آغازگر فقط در جنس هوردئوم تکثیر شدند. از بین نشانگرهای تکثیر شده، ۲۱ نشانگر در گونه‌های جنس تریتیکوم چند شکل بودند که در مجموع ۵۹ آلل با دامنه آلی ۲ تا ۵ و میانگین ۲/۸۰ آلل به ازای هر جایگاه، تکثیر شدند. در جنس هوردئوم نیز با استفاده ۴۳ نشانگر چندشکل، ۱۲۳ آلل با میانگین ۳/۰۲ آلل و دامنه تغییرات ۲ تا ۱۴ بدست آمد. در مجموع در گونه‌های دو جنس، با استفاده از ۱۸ جفت آغازگر چندشکل، ۹۱ آلل با دامنه تغییرات ۲ تا ۱۹ و میانگین ۵/۰۵ آلل به ازای هر جایگاه تکثیر شدند و تنوع ژنی از ۰/۱۴ تا ۰/۸۵ با میانگین ۰/۵۹ متغیر بود. بر اساس تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم Neighbor-Joining و ضریب فاصله Kimura-2-Parameters و نیز تجزیه به بردارهای اصلی براساس داده‌های ریزماهوره، گونه‌های مربوط به دو جنس کاملاً از یکدیگر تفکیک شدند. در خوشه جنس تریتیکوم، چهار گونه براساس سطح پلوئیدی در زیر خوشه‌های جداگانه گروه‌بندی شدند، به طوری که ارقام زراعی گندم نان کاملاً از خویشاوندان وحشی آن تفکیک و گونه‌هایی با ژنوم A نیز تقریباً در کنار هم واقع شدند. در گروه جنس هوردئوم نیز ارقام زراعی جو از سه خویشاوند وحشی آن تفکیک شدند. نتایج آزمایش حاضر نشان‌دهنده کارایی نشانگرهای ریزماهوره جو در تجزیه روابط فیلوژنتیک جنس‌های تریتیکوم و هوردئوم بود. نشانگرهای مورد استفاده علاوه بر انتقال پذیری و چند شکلی قابل قبول در گونه‌های دو جنس یاد شده، آن‌ها را براساس ساختار ژنومی و روابط تکاملی تفکیک کردند.

واژه‌های کلیدی: انتقال پذیری، تنوع ژنتیکی، جو، گندم و نشانگرهای SSR

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۱۸

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، قطب علمی اصلاح مولکولی غلات. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده)

(پست الکترونیک: mohammadi@tabrizu.ac.ir)

۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز. قطب علمی اصلاح مولکولی غلات

۴- استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات دیم کشور

مقدمه

طایفه Triticeae به زیر خانواده Pooideae تعلق داشته و تقریباً دارای پانصد گونه یکساله و چندساله است که از بین آنها گندم، جو و چاودار مهم تر هستند. این تیره شامل گونه‌های زراعی مهم از جنس‌های تریتیکوم (*Triticum aestivum* and *Triticum durum*) (به ترتیب گندم نان و گندم ماکارونی) و هوردئوم (*Hordeum vulgare*) می‌باشد. گندم نان، هگزاپلوئید دارای سه ژنوم A، B و D و گندم دوروم تراپلوئید دارای دو ژنوم A و B است. ژنوم‌های A و D به ترتیب از گونه‌های *T. urartu* و *Ae. tauschii* و ژنوم B به احتمال زیاد از گونه *Aegilops speltoides* به گندم منتقل شده است (Charmet, 2011). جنس هوردئوم نیز دارای گونه‌های دیپلوئید، تراپلوئید و هگزاپلوئید بوده و گونه *H. vulgare* زراعی و دیپلوئید با $2n=2x=14$ کروموزوم است. گونه‌های تراپلوئید و هگزاپلوئید این جنس اغلب وحشی هستند (Doebly et al., 1992). علاوه بر گونه‌های زراعی این دو جنس، گونه‌های وحشی آنها نیز از اهمیت خاصی در برنامه‌های اصلاحی برخوردار هستند. بنابراین، تعیین روابط فیلوژنتیک گونه‌های زراعی و وحشی جنس‌های تریتیکوم و هوردئوم می‌تواند استفاده بهینه از آنها را برای شناسایی و بهره‌برداری از ژن‌های مفید تسریع نماید. با توجه به شباهت ژنومی جنس‌های طایفه Triticeae، پژوهش‌های متعددی برای تعیین روابط ژنومی و فیلوژنتیکی گونه‌های زراعی و خویشاوندان وحشی این جنس‌ها با هدف استفاده از خویشاوندان وحشی در برنامه‌های اصلاحی انجام شده است (Buyukunal-Bal and Akaya, 2002; Yildirim et al., 2009; Castillo et al., 2010).

مطالعات ژنومیک مقایسه‌ای در سال‌های اخیر، نشان‌دهنده وجود آرایش حفاظت شده برای نشانگرها و ژن‌ها در موقعیت مشابه بین ژنوم گونه‌های خویشاوند در گیاهان می‌باشد

که در طول تکامل آنها این آرایش اغلب حفظ شده است (Castillo et al., 2010; Andrew et al., 2000). نقشه‌های مقایسه‌ای و هم‌ردیفی نشانگرها در گونه‌های علفی مختلف نیز وجود روابط هم‌خطی حفاظت شده را در ژنوم آنها نشان می‌دهد (Bennetzen and Freeling, 1993) که این موضوع استفاده از نشانگرهای یک گونه یا جنس را در گونه‌های دیگر یا حتی جنس‌های خویشاوند امکان‌پذیر می‌کند. در بین نشانگرهای DNA، انتقال‌پذیری نشانگرهای ریزماهوره (SSR) به علت تکرارپذیری بالا، ماهیت چندآلی، توارث هم‌بارز، فراوانی ژنومی بالا و توزیع تصادفی در ژنوم، برای بررسی روابط ژنتیکی بین گونه‌های مختلف یک جنس و نیز جنس‌های مختلف درون یک تیره گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است (Gupta et al., 2003; Adonina et al., 2005; Wang et al., 2005; Yildirim et al., 2009; Castillo et al., 2010). انتقال‌پذیری و چندشکلی نشانگرهای SSR گندم در گونه‌های *T. durum* (Korzun et al., 1999)، *Ae. tauschii*، *T. dicoccoides* (Fahima et al., 1998) (Salina et al., 2000)، *T. timopheevii* (Pestsova et al., 2000) و *Ae. longissima*، *Ae. speltoides* (Adonina et al., 2005)، *searsii* (Adonina et al., 2005)، گونه‌های اجدادی دیپلوئید مختلف (Sourdille et al., 2001)، چاودار، تریتیکاله و جو (Röder et al., 1995; Khlestkina et al., 2004) (Kuleung et al., 2004) مورد بررسی قرار گرفته است. ریزماهوره‌های جو نیز برای تجزیه فیلوژنتیک در *H. chilense* (Castillo et al., 2008, 2010) و جو وحشی یکساله تبتی (Zhang et al., 2014)، مکان‌یابی مقایسه‌ای در گندم، چاودار و برنج (Varshney et al., 2005) و تکثیرپذیری و چندشکلی در گندم نان (Holton et al., 2002) استفاده گردیده است.

مطالعات متعددی در جهت دورگ‌گیری گندم و

و ۲۰ ژنوتیپ از جنس تریتیکوم شامل نه رقم گندم نان، چهار ژنوتیپ *T. araraticum*، چهار ژنوتیپ *T. boeoticum* و سه ژنوتیپ *T. urartu* بود (جدول ۱). بذره‌های ارقام زراعی گندم و جو از موسسه تحقیقات دیم کشور و بذره‌های خویشاوندان وحشی جو و گندم از قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز تهیه شد. گونه‌های *T. urartu*، *T. araraticum* و *T. boeoticum* از استان ایلام و گونه‌های جو وحشی از حوزه دریاچه ارومیه جمع‌آوری شدند. استخراج DNA ژنومی از مخلوط نمونه برگی ۱۰ بوته از هر ژنوتیپ در مرحله چندبرگی به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1984) انجام و کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتری تعیین گردید.

جو با هدف تولید گیاهی جدید با ترکیب خصوصیات مطلوب هر دو گونه و نیز انتقال ژن‌های مطلوب جو به گندم انجام شده است (Polgári *et al.*, 2104)، بنابراین بررسی روابط فیلوژنتیک گونه‌های مربوطه و شناسایی شباهت‌های ژنومی آن‌ها می‌تواند در استفاده بهینه از این گونه‌ها در برنامه‌های اصلاحی مفید واقع شود. هدف این مطالعه، بررسی انتقال‌پذیری و چندشکلی نشانگرهای ریزماهوره جو زراعی برای تعیین روابط خویشاوندی گونه‌های جنس‌های تریتیکوم و هوردنوم بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در آزمایش شامل ۲۰ ژنوتیپ از جنس هوردنوم شامل ۱۷ رقم جو زراعی، دو ژنوتیپ *H. morineum* و یک ژنوتیپ *H. spontaneum*

جدول ۱- ارقام گندم، جو و گونه‌های خویشاوند وحشی مورد مطالعه آن‌ها

Table 1. Name of wheat and barley cultivars and their wild relative species

| ارقام زراعی و خویشاوندان وحشی جو | ارقام زراعی و خویشاوندان وحشی گندم |
|-------------------------------------|------------------------------------|
| Barley cultivars and wild relatives | Wheat cultivars and wild relatives |
| Eram (H)* | Zagros (ABD) |
| Gohar jou (H) | Sivand (ABD) |
| Afzal (H) | Shahriyar (ABD) |
| Fajr 30 (H) | Ohadi (ABD) |
| Sina (H) | Azar2 (ABD) |
| Karoon (H) | Tekab (ABD) |
| Walfajr (H) | Homa (ABD) |
| Nimrooz (H) | Karim (ABD) |
| Nosrat (H) | Sardari (ABD) |
| Ashar (H) | <i>T. urartu</i> kc-55045 (A) |
| Yea 188 (H) | <i>T. urartu</i> kc-55047 (A) |
| Aras (H) | <i>T. urartu</i> kc-55043 (A) |
| Steptoe (H) | <i>T. araraticum</i> kc-55099 (AG) |
| Shirin (H) | <i>T. araraticum</i> kc-55061 (AG) |
| Loot (H) | <i>T. araraticum</i> kc-55060 (AG) |
| Seyed Tajaddin (H) | <i>T. araraticum</i> kc-55058 (AG) |
| Sahara 3771 (H) | <i>T. boeoticum</i> kc-55035 (A) |
| <i>H. morineum</i> TN-02-216 (Y) | <i>T. boeoticum</i> kc-55033 (A) |
| <i>H. morineum</i> TN-02-290 (Y) | <i>T. boeoticum</i> kc-55034 (A) |
| <i>H. spontaneum</i> TN-02-1306 (H) | <i>T. boeoticum</i> kc-55036 (A) |

The genome of studied species

* ژنوم گونه‌های مورد مطالعه

ریزماهوره‌های جو در جنس‌های تریتیکوم و هوردنوم،

برای آزمون انتقال‌پذیری و چندشکلی

(Shannon, 1948) و تنوع ژنی نی (Nei, 1973) برای برآورد تنوع درون گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenAEx V.6.41 (Peakall and Smouse, 2012) انجام شد.

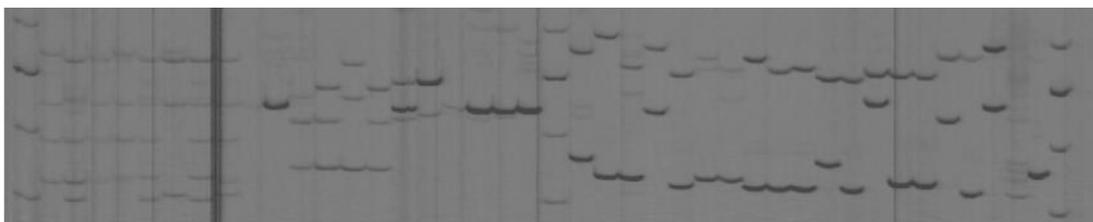
نتایج و بحث

نتایج نشان داد که در مجموع، از ۱۵۰ جفت آغازگر مورد استفاده، ۴۹ جفت آغازگر بطور مشترک در هر دو جنس تریتیکوم و هوردئوم تکثیر شدند که از این تعداد فقط ۱۸ جفت آغازگر چندشکل بودند. شکل ۱ الگوی نواری نشانگر SC07970 را در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. آغازگرهای GBM1408، GBM1446، GBM1227، GBM1501 و SC05939 و SC08447 در تعداد محدودی از ژنوتیپ‌های گندم و تعداد ۴۵ جفت آغازگر در کلیه ژنوتیپ‌های تریتیکوم تکثیر شدند. در نهایت ۲۱ جفت آغازگر چند شکل که در اغلب ژنوتیپ‌های جنس تریتیکوم (بیش از ۹۰ درصد) تکثیر شده بودند برای امتیازدهی و تجزیه‌های بعدی انتخاب شدند. تعداد ۱۳۱ جفت آغازگر از آغازگرهای مورد مطالعه در جنس هوردئوم تکثیر، ۱۹ جفت آغازگر بدون تکثیر و فقط ۴۳ جفت آغازگر چندشکلی نشان دادند.

تعداد نشانگرهای مورد استفاده، تکثیر یافته و چندشکل به تفکیک هفت کروموزوم جو در مجموع هردو جنس، در جدول ۲ نشان داده شده است. تعداد نشانگرهای مورد استفاده از ۱۴ برای کروموزوم 7H تا ۴۳ برای کروموزوم 5H با میانگین ۲۱/۴۲ نشانگر به ازای هر کروموزوم و تعداد نشانگرهای تکثیر شده نیز از پنج (1H، 3H، 6H و 7H) تا ۱۳ (2H) با میانگین هفت نشانگر به ازای هر کروموزوم متغیر بود. از ۴۹ نشانگر تکثیر شده، فقط ۱۸ نشانگر در هر دو جنس چندشکلی نشان دادند که بیشترین آن به 4H و 5H با پنج نشانگر چند شکل تعلق داشت و هیچ کدام از پنج نشانگر تکثیر یافته 1H چندشکلی نشان ندادند.

تکثیر جایگاه‌های ریزماهواره از ۱۵۰ جفت آغازگر استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرولیتر شامل دو میکرولیتر DNA ژنومی، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای مستقیم و معکوس، چهار میکرولیتر مخلوط استاندارد PCR (Master mix) و سه میکرولیتر ظاهر کننده DNA (Dye) بود. اجزای مخلوط استاندارد PCR شامل dNTPs، MgCl₂، بافر PCR، آنزیم Taq DNA polymerase و ماده رنگی بود. فرآورده‌های تکثیر شده حاصل از PCR با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید چهار درصد غیر واسرشته‌ساز با ضخامت ۰/۲ میلی‌متر در دستگاه ژل اسکن ۳۰۰۰ (Corbett Robotics, Australia) تفکیک شدند.

انتقال‌پذیری آغازگرها به صورت نسبت تعداد آغازگرهای تکثیر یافته در گونه‌های جنس‌های تریتیکوم و هوردئوم به کل آغازگرهای مورد استفاده محاسبه شد. الگوی نواری نشانگرهای چندشکل به صورت یک (وجود آلل) و صفر (عدم وجود آلل) امتیازدهی گردید. بعلاوه تعداد آلل‌ها، فراوانی آللی، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و تنوع ژنی (He) نیز برای هر جایگاه برآورد گردید. پارامترهای PIC و He به ترتیب با استفاده از رابطه‌های $PIC = 1 - \sum p_i^2$ و $H_e = 1 - \sum p_i^2$ (Liu and Muse, Power Marker V3.25) (2005) محاسبه شدند. p_i و p_j به ترتیب فراوانی آلل i ام و j ام هستند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، با استفاده از تجزیه خوشه‌ای با الگوریتم Neighbour-Joining و ضریب فاصله Kimura-2-Parameters با استفاده از نرم‌افزار MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011) انجام و اعتبار گروه‌بندی براساس ۱۰۰۰ بار بوت‌استرپ تعیین گردید. تجزیه به بردارهای اصلی (PCoA) نیز به عنوان روش مکمل تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نرم‌افزار GenAEx6.41 انجام شد. علاوه براین، تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) و نیز برآورد شاخص‌های شانون



شکل ۱- الگوی نواری نشانگر ریزماهوره جو SC07970 در گونه جنس های *Hordeum* و *Triticum*

Fig. 1. The banding pattern of SC07970 barley microsatellite marker in the species of *Triticum* and *Hordeum* genus

جدول ۲- انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهوره جو در گونه های جنس های تریتیکوم و هوردنوم به تفکیک کروموزومها

Table 2. Transferability of barley microsatellite markers in *Triticum* and *Hordeum* species

| Barley chromosome | | All accessions | | | <i>Hordeum</i> | | <i>Triticum</i> | | |
|-------------------|-------|----------------|------|-------|----------------|------|-----------------|-------|-------|
| | | Total | Amp. | Poly. | Mono. | Amp. | Poly. | Mono. | Poly. |
| 1H | 1H | 15 | 4 | 0 | 4 | 13 | 4 | 9 | 0 |
| | 2H | 30 | 8 | 4 | 4 | 26 | 11 | 15 | 3 |
| | 3H | 17 | 3 | 1 | 2 | 15 | 2 | 13 | 1 |
| | 4H | 15 | 9 | 6 | 3 | 13 | 7 | 6 | 5 |
| | 5H | 43 | 10 | 6 | 4 | 39 | 11 | 28 | 5 |
| | 6H | 16 | 8 | 2 | 6 | 13 | 4 | 9 | 2 |
| | 7H | 14 | 3 | 2 | 1 | 12 | 4 | 8 | 2 |
| | Total | 150 | 45 | 21 | 24 | 131 | 43 | 88 | 18 |

(Varshney *et al.*, 2005) نیز در بررسی انتقال پذیری نشانگرهای EST-SSRهای جو، تکثیر پذیری ۷۸/۲ درصد آنها را در گندم، ۷۵/۲ درصد را در چاودار و ۴۲/۴ درصد را در برنج گزارش کردند. یلدیرم و همکاران (Yildirim *et al.*, 2009) انتقال پذیری ۲۳ جفت آغازگر SSR جو را در تعدادی از ارقام زراعی غلات سردسیری شامل پنج ژنوتیپ گندم، شش ژنوتیپ جو، دو ژنوتیپ یولاف و دو ژنوتیپ چاودار مورد بررسی قرار دادند. میزان انتقال پذیری آغازگرهای SSR جو در گندم ۶۹ درصد، یولاف ۴۳/۵ درصد و چاودار ۵۲/۵ درصد بود و از ۱۶، ۱۰ و ۱۲ نشانگر تکثیر شده در گندم، یولاف و چاودار به ترتیب ۱۴، ۴ و ۳ نشانگر چند شکلی نشان دادند. کاستیلو و همکاران (Castillo *et al.*, 2009) انتقال پذیری ۱۳۰ نشانگر ریزماهوره جو و ۱۴۷ نشانگر ریزماهوره گندم مربوط به ژنوم D را در گونه وحشی *H. chilense* مورد بررسی قرار دادند که ۵۸ آغازگر گندم

وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2005) با ارزیابی انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهوره چهار گونه از غلات دانه درشت شامل گندم، سورگوم، ذرت و برنج و در گونه های دانه ریز شامل ارزن، چمن و پنجه مرغی، میانگین انتقال پذیری این نشانگرها را ۵۷ درصد گزارش کردند. میزان انتقال پذیری نشانگرها با رابطه فیلوژنتیکی یا خویشاوندی ژنتیکی آنها ارتباط داشت و تکثیر بین گونه ای در گونه های خویشاوند بیشتر بود. کمترین میزان انتقال پذیری به نشانگرهای ذرت (۴۸ درصد) و بیشترین آن مربوط به انتقال پذیری نشانگرهای گندم نان در گندم دوروم (۸۰ درصد) اختصاص داشت. کاستیلو و همکاران (Castillo *et al.*, 2008)، انتقال پذیری و چندشکلی ۸۲ نشانگر EST-SSR جو را در *H. chilense* مورد بررسی قرار دادند. هر چند که کلیه نشانگرها تکثیر شدند، ولی فقط ۲۱ نشانگر با الگوی تکثیری قابل قبول چندشکلی نشان دادند. وارشنی و همکاران

جدول ۳- خصوصیات نشانگرهای ریزماهوره جو در گونه‌های جنس تریٹیکوم شامل جایگاه کروموزومی، دمای اتصال، فراوانی آلل شایع، تعداد آلل، تنوع ژنی و محتوای اطلاعات چند شکلی

Table 3. Description of barley SSR markers in *Triticum* species including chromosome location, annealing temperature, frequency of common allele, number of alleles, gene diversity and polymorphic information content

| نشانگر Marker | کروموزوم Chromosome | اندازه قطعات Fragment size (bp) | دمای اتصال Annealing temperature | فراوانی آلل شایع Frequency of common allele | تعداد آلل Number of allele | تنوع ژنی Gen diversity | میزان اطلاعات چندشکلی Polymorphic information content |
|------------------|------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------|---------------------------|--|
| GBM1422 | 4H | 150-170 | 60 | 0.80 | 2 | 0.32 | 0.26 |
| GBM1405 | 3H | 260-285 | 60 | 0.66 | 4 | 0.50 | 0.45 |
| GBM1299 | 4H | 150-192 | 58 | 0.65 | 3 | 0.50 | 0.44 |
| GBM1446 | 2H | 200-215 | 59 | 0.50 | 3 | 0.54 | 0.44 |
| GBM1364 | 4H | 135-150 | 59 | 0.85 | 2 | 0.25 | 0.22 |
| GBM1366 | 2H | 150-183 | 60 | 0.65 | 2 | 0.45 | 0.35 |
| GBM1440 | 2H | 105-114 | 60 | 0.47 | 3 | 0.61 | 0.53 |
| GBM1432 | 7H | 280-295 | 60 | 0.55 | 2 | 0.49 | 0.37 |
| GBM1423 | 6H | 250-263 | 60 | 0.70 | 4 | 0.46 | 0.42 |
| SC02306 | 5H | 105-111 | 60 | 0.94 | 2 | 0.10 | 0.09 |
| SC02503 | 5H | 115-135 | 59 | 0.55 | 2 | 0.49 | 0.37 |
| SC03907 | 5H | 112-135 | 59 | 0.85 | 2 | 0.25 | 0.22 |
| SC05599 | 6H | 150-180 | 60 | 0.61 | 3 | 0.51 | 0.42 |
| SC07970 | 7H | 125-225 | 60 | 0.70 | 5 | 0.48 | 0.46 |
| SC14079 | 4H | 120-130 | 59 | 0.75 | 4 | 0.41 | 0.37 |
| SC15334 | 5H | 175-190 | 59 | 0.88 | 2 | 0.19 | 0.17 |
| SC16991 | 5H | 135-154 | 59 | 0.70 | 4 | 0.47 | 0.44 |
| SC18005 | 4H | 150-175 | 59 | 0.55 | 2 | 0.49 | 0.37 |
| SC25691 | 4H | 210-218 | 59 | 0.55 | 2 | 0.49 | 0.37 |
| SC02093 | 5H | 185-198 | 59 | 0.60 | 4 | 0.54 | 0.47 |
| SC00334 | 2H | 205-210 | 59 | 0.95 | 2 | 0.09 | 0.09 |
| Mean | میانگین | | | 0.68 | 2.8 | 0.41 | 0.35 |

آن به نشانگرهای GBM1432، GBM1149، GBM1423 و SC02503 (با میانگین ۰/۰۹) با میانگین ۰/۴۲ اختصاص داشت. محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۰۹ تا ۰/۹ با میانگین ۰/۳۶ متغیر بود. نشانگر SC07970 حداکثر و نشانگرهای GBM1423، GBM1432، GBM1149، SC16991 و SC02503 کمترین مقادیر را دارا بودند (جدول ۴).

در مجموع جنس‌های تریتیکوم و هوردنوم با استفاده از ۱۸ جفت آغازگر چندشکل، در مجموع ۹۱ آلل در جنس‌های تریتیکوم و هوردنوم تکثیر شدند (جدول ۵). تعداد آلل‌ها از ۲ (GBM1364) تا ۱۹ (SC07970) با میانگین ۵/۰۵ متغیر بود. فراوانی آلل شایع برای نشانگر SC00334 دارای بیش‌ترین مقدار (۰/۹۲) و نشانگر GBM1405 دارای کمترین مقدار (۰/۳۱) بود و میانگین آن برابر ۰/۵۲ بدست آمد. مقدار تنوع ژنی از ۰/۱۴ تا ۰/۸۵ با میانگین ۰/۵۹ متغیر بود و نشانگرهای SC07970 و SC00334 به ترتیب حداکثر و حداقل این شاخص را داشتند.

ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2014) تنوع و ساختار ژنتیکی ۸۰ ژنوتیپ جو وحشی تبتی و ۱۹ رقم اصلاحی را با استفاده از ۴۹ نشانگر EST-SSR و ۲۰ نشانگر SSR بررسی کردند. در مجموع، ۲۱۳ آلل با میانگین ۳/۱۴ آلل به ازای هر جایگاه تکثیر گردید. محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۰۸ تا ۰/۷۵ با میانگین ۰/۴۶ و تنوع ژنی (هتروزیگوتی مورد انتظار) از ۰/۰۸ تا ۰/۷۸ با میانگین ۰/۵۳ متغیر بود. کاستیلو و همکاران (Castillo *et al.*, 2010) انتقال‌پذیری و چندشکلی ۱۳۰ ریزماهواره جو و ۱۴۷ ریزماهواره ژنوم D گندم در گونه وحشی *H. chilense* مورد بررسی قرار دادند. از ۱۳۰ نشانگر جو، ۷۱ آغازگر تکثیر قابل قبولی را در ژنوم *H. chilense* نشان داشتند، ولی فقط ۲۹ نشانگر چندشکل بودند. در مجموع، ۲۵۰ آلل با استفاده از این نشانگرها در ۸۸ ژنوتیپ *H. chilense* تکثیر شدند و تعداد آلل از ۲ تا ۸ با میانگین ۸/۷۶ آلل

و ۷۱ آغازگر جو در گونه *H. chilense* تکثیر نشان دادند. در مجموع، ۱۹ نشانگر ژنوم D گندم و ۲۰ نشانگر جو چندشکل بودند. بانو بای کونال و آکایا (Buyukuna-Ball and Akaya, 2002) امکان استفاده از آغازگرهای ریزماهواره چندشکل جو را در گندم مورد بررسی قرار دادند. این نشانگرها در گندم تکثیر نشان دادند ولی چندشکل نبودند.

با استفاده از ۲۱ جفت آغازگر چندشکل، در مجموع ۵۹ آلل با دامنه آللی ۲ تا ۵ و میانگین ۲/۸ آلل به ازای هر جایگاه در جنس تریتیکوم تکثیر گردید. کمترین تعداد آلل به نشانگرهای GBM1422، GBM1364، GBM1366، GBM1432، SC02306، SC02503، SC03907، SC15334، SC18005، SC00334 و SC25691 با دو و بیش‌ترین آن به نشانگر SC07970 با پنج آلل تعلق داشت. فراوانی آلل شایع (آللی که در بین آلل‌های یک جایگاه بیش‌ترین فراوانی را دارد) از ۰/۹۵ برای نشانگر SC00334 تا ۰/۴۷ برای نشانگر GBM1440 متغیر بود. حداکثر و حداقل تنوع ژنی که احتمال متفاوت بودن دو آلل تصادفی از دو فرد را نشان می‌دهد، به ترتیب ۰/۶۱ (GBM1440) و ۰/۰۹ (SC00334) با میانگین ۰/۴۱ بود. محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۰۹ تا ۰/۵۳ با میانگین ۰/۳۵ متغیر بود. بیش‌ترین میزان PIC به نشانگر GBM1440 و کمترین آن به نشانگرهای SC00334 و SC02306 اختصاص داشت (جدول ۳).

در جنس هوردنوم از ۱۵۰ جفت آغازگر مورد استفاده، ۱۳۱ جفت آغازگر تکثیر و ۴۳ جفت آغازگر چندشکلی نشان دادند. در مجموع ۱۳۳ آلل تکثیر شد و تعداد آلل از ۲ تا ۱۴ متغیر بود و حداکثر تعداد آلل به نشانگر SC07970 اختصاص داشت. فراوانی آلل شایع برای نشانگرهای GBM1423، GBM1432، GBM1149، SC02503 و SC16991 دارای بیش‌ترین مقدار (۰/۹۵) و برای نشانگر SC07970 کمترین مقدار (۰/۱۵) را داشت. حداکثر تنوع ژنی به نشانگر SC07970 (۰/۹۱) و حداقل

جدول ۴- خصوصیات نشانگرهای ریزماهوره جو در گونه‌های جنس هوردنوم شامل جایگاه کروموزومی، دمای اتصال، فراوانی آلل شایع، تعداد آلل، تنوع ژنی و محتوای اطلاعات چند شکلی

Table 4. Description of barley SSR markers in *Hordeum* species including chromosome location, annealing temperature, frequency of common allele, number of alleles, gene diversity and polymorphic information content

| نشانگر Marker | کروموزوم Chromosome | اندازه قطعات Fragment size (bp) | دمای اتصال Annealing temperature | فراوانی آلل شایع Frequency of common allele | تعداد آلل Number of allele | تنوع ژنی Gene diversity | میزان اطلاعات چند شکلی Polymorphic information content |
|------------------|------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------|----------------------------|---|
| GBM1364 | 4H | 135-150 | 59 | 0.68 | 2 | 0.43 | 0.33 |
| GBM1299 | 4H | 150-200 | 58 | 0.70 | 4 | 0.46 | 0.42 |
| GBM1422 | 4H | 150-185 | 60 | 0.50 | 4 | 0.64 | 0.58 |
| GBM1405 | 3H | 280-295 | 60 | 0.55 | 3 | 0.56 | 0.48 |
| GBM1440 | 2H | 140-152 | 60 | 0.80 | 2 | 0.32 | 0.26 |
| GBM1366 | 2H | 150-183 | 60 | 0.75 | 3 | 0.39 | 0.34 |
| GBM1423 | 6H | 230-250 | 60 | 0.95 | 2 | 0.09 | 0.09 |
| GBM1432 | 7H | 280-295 | 60 | 0.95 | 2 | 0.09 | 0.09 |
| SC25691 | 4H | 200-225 | 59 | 0.68 | 4 | 0.48 | 0.43 |
| SC16991 | 5H | 150-175 | 59 | 0.95 | 2 | 0.09 | 0.09 |
| SC07970 | 7H | 160-300 | 60 | 0.15 | 14 | 0.91 | 0.90 |
| SC05599 | 6H | 175-190 | 60 | 0.85 | 2 | 0.25 | 0.22 |
| SC02093 | 5H | 175-185 | 59 | 0.65 | 3 | 0.48 | 0.40 |
| SC02306 | 5H | 190-220 | 60 | 0.45 | 4 | 0.68 | 0.63 |
| SC02503 | 5H | 150-180 | 59 | 0.95 | 2 | 0.09 | 0.09 |
| SC03907 | 5H | 120-150 | 59 | 0.47 | 5 | 0.69 | 0.65 |
| SC00334 | 2H | 190-210 | 59 | 0.90 | 3 | 0.18 | 0.17 |
| GBM1408 | 2H | 220-230 | 60 | 0.75 | 2 | 0.37 | 0.30 |
| GBM1411 | 1H | 300-310 | 60 | 0.70 | 2 | 0.42 | 0.33 |
| GBM1459 | 2H | 160-175 | 60 | 0.55 | 2 | 0.79 | 0.37 |
| GBM1480 | 1H | 250-280 | 60 | 0.60 | 2 | 0.48 | 0.36 |
| GBM1475 | 2H | 140-150 | 60 | 0.63 | 2 | 0.46 | 0.35 |
| GBM1149 | 2H | 190-200 | 60 | 0.95 | 2 | 0.09 | 0.09 |
| GBM1158 | 2H | 260-275 | 60 | 0.75 | 2 | 0.37 | 0.30 |
| GBM1276 | 6H | 350-360 | 56 | 0.80 | 2 | 0.32 | 0.26 |
| BMAC0508 | 3H | 160-180 | 58 | 0.47 | 3 | 0.54 | 0.44 |
| GBM1400 | 6H | 155-172 | 60 | 0.75 | 3 | 0.40 | 0.36 |
| GBM1434 | 1H | 163-182 | 60 | 0.60 | 3 | 0.51 | 0.42 |
| GBM1501 | 4H | 270-284 | 56 | 0.63 | 3 | 0.52 | 0.45 |
| GBM1516 | 7H | 100-110 | 59 | 0.75 | 3 | 0.39 | 0.34 |
| GBM1227 | 5H | 155-172 | 60 | 0.64 | 2 | 0.45 | 0.35 |
| GBM1229 | 5H | 120-135 | 60 | 0.90 | 3 | 0.18 | 0.17 |
| GBM1231 | 5H | 165-182 | 59 | 0.60 | 4 | 0.57 | 0.52 |
| GBM1446 | 2H | 200-215 | 59 | 0.78 | 3 | 0.34 | 0.31 |
| SC14079 | 4H | 125-147 | 59 | 0.68 | 4 | 0.48 | 0.43 |
| SC15334 | 5H | 150-190 | 59 | 0.60 | 4 | 0.56 | 0.50 |
| SC15864 | 7H | 160-177 | 59 | 0.50 | 4 | 0.58 | 0.50 |
| SC04163 | 1H | 180-195 | 59 | 0.75 | 5 | 0.42 | 0.40 |
| SC05939 | 5H | 155-170 | 59 | 0.55 | 2 | 0.49 | 0.37 |
| SC07106 | 5H | 155-165 | 59 | 0.63 | 2 | 0.46 | 0.35 |
| SC08447 | 2H | 160-175 | 59 | 0.90 | 3 | 0.18 | 0.17 |
| SC03381 | 2H | 210-226 | 59 | 0.45 | 3 | 0.64 | 0.57 |
| GBM1364 | 4H | 135-150 | 59 | 0.45 | 2 | 0.17 | 0.35 |
| Mean میانگین | | | | 0.68 | 3.11 | 0.42 | 0.36 |

" انتقال پذیری و چندشکلی نشانگرهای .."

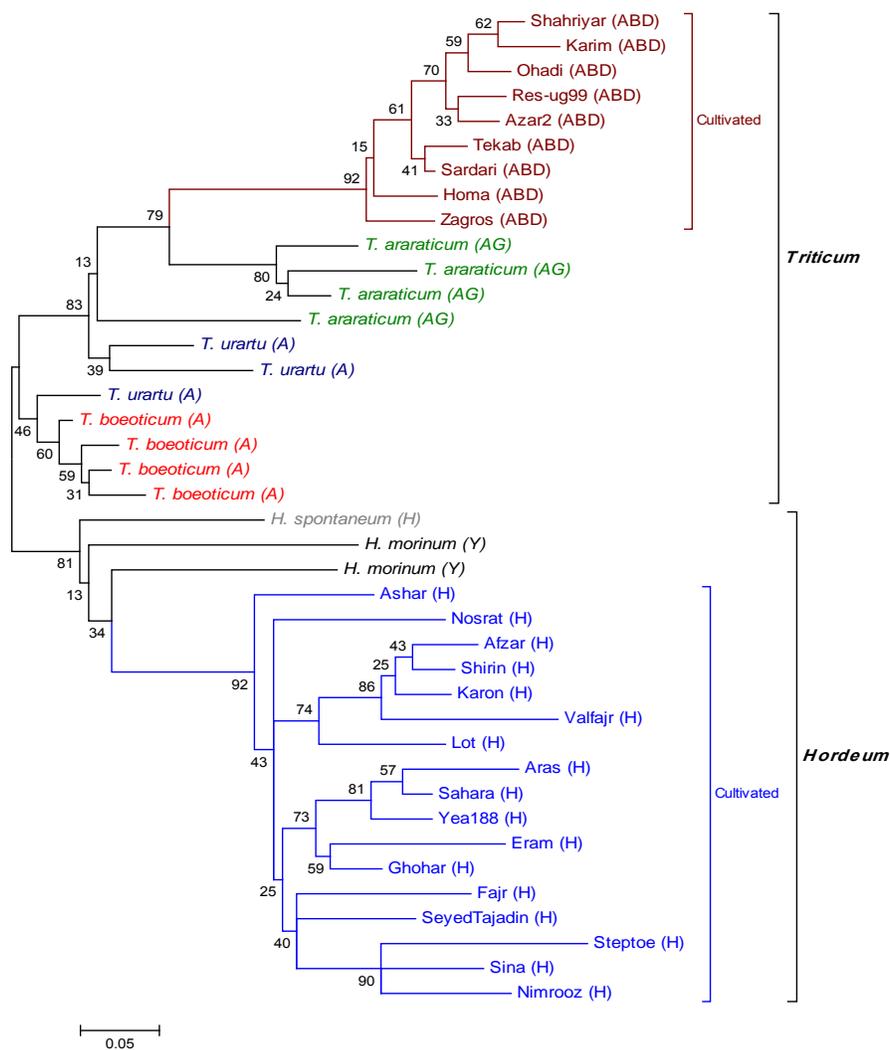
جدول ۵- خصوصیات نشانگرهای ریزماهواره جو در گونه‌های جنس تریتیکوم و هوردنوم شامل جایگاه کروموزومی، دمای اتصال، فراوانی آلل شایع، تعداد آلل، تنوع ژنی و محتوای اطلاعات چند شکلی

Table 5. Description of barley SSR markers in *Triticum* and *Hordeum* species including chromosome location, annealing temperature, frequency of common allele, number of alleles, gene diversity and polymorphic information content.

| نشانگر Marker | کروموزوم Chromosome | اندازه قطعات Fragment size (bp) | دمای اتصال Annealing temperature | فراوانی آلل شایع Frequency of common allele | تعداد آلل Number of allele | تنوع ژنی Gen diversity | میزان اطلاعات چندشکلی Polymorphic information content |
|------------------|------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------|---------------------------|--|
| GBM1364 | 4H | 135-150 | 59 | 0.58 | 2 | 0.48 | 0.36 |
| GBM1299 | 4H | 145-200 | 58 | 0.40 | 5 | 0.69 | 0.63 |
| GBM1422 | 4H | 150-185 | 60 | 0.55 | 5 | 0.62 | 0.57 |
| GBM1405 | 3H | 260-295 | 60 | 0.31 | 4 | 0.73 | 0.68 |
| GBM1440 | 2H | 105-152 | 60 | 0.58 | 3 | 0.53 | 0.45 |
| GBM1366 | 2H | 150-183 | 60 | 0.55 | 3 | 0.56 | 0.48 |
| GBM1423 | 6H | 230-263 | 60 | 0.50 | 5 | 0.61 | 0.54 |
| GBM1432 | 7H | 280-295 | 60 | 0.47 | 4 | 0.64 | 0.58 |
| SC25691 | 4H | 200-225 | 59 | 0.62 | 4 | 0.54 | 0.48 |
| SC14079 | 4H | 120-147 | 59 | 0.43 | 5 | 0.67 | 0.62 |
| SC16991 | 5H | 135-175 | 59 | 0.52 | 7 | 0.65 | 0.61 |
| SC07970 | 7H | 125-300 | 60 | 0.35 | 19 | 0.85 | 0.84 |
| SC05599 | 6H | 150-190 | 60 | 0.60 | 4 | 0.54 | 0.47 |
| SC02093 | 5H | 175-198 | 59 | 0.62 | 4 | 0.55 | 0.50 |
| SC02306 | 5H | 105-220 | 60 | 0.55 | 4 | 0.60 | 0.54 |
| SC02503 | 5H | 115-180 | 59 | 0.47 | 3 | 0.63 | 0.56 |
| SC03907 | 5H | 112-150 | 59 | 0.43 | 6 | 0.69 | 0.64 |
| SC00334 | 2H | 190-210 | 59 | 0.92 | 4 | 0.14 | 0.13 |
| Mean | میانگین | | | 0.52 | 5.05 | 0.59 | 0.54 |

گرفتند. در خوشه جنس تریتیکوم گونه‌ها براساس سطح پلوئیدی در زیر خوشه‌های جداگانه‌ای گروه‌بندی شدند، به طوری که ارقام زراعی گندم نان کاملاً از خویشاوندان وحشی آن تفکیک شدند و گونه‌هایی با ژنوم A نیز تقریباً در کنار هم واقع شدند. گونه‌های جنس هوردئوم نیز یک گروه مجزا تشکیل دادند. در این گروه نیز ارقام زراعی جو از سه خویشاوند وحشی آن تفکیک شدند.

به ازای هر جایگاه بدست آمد. روابط ژنتیکی گونه‌های دو جنس مورد مطالعه براساس داده‌های نشانگرهای ریزماهواره جو با استفاده از الگوریتم Neighbor-Joining تجزیه خوشه‌ای و ضریب فاصله Kimura-2-Parameters و نیز تجزیه به بردارهای اصلی مورد بررسی قرار گرفت. در دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای (شکل ۲)، گونه‌های مربوط به دو جنس در دو گروه مجزا قرار

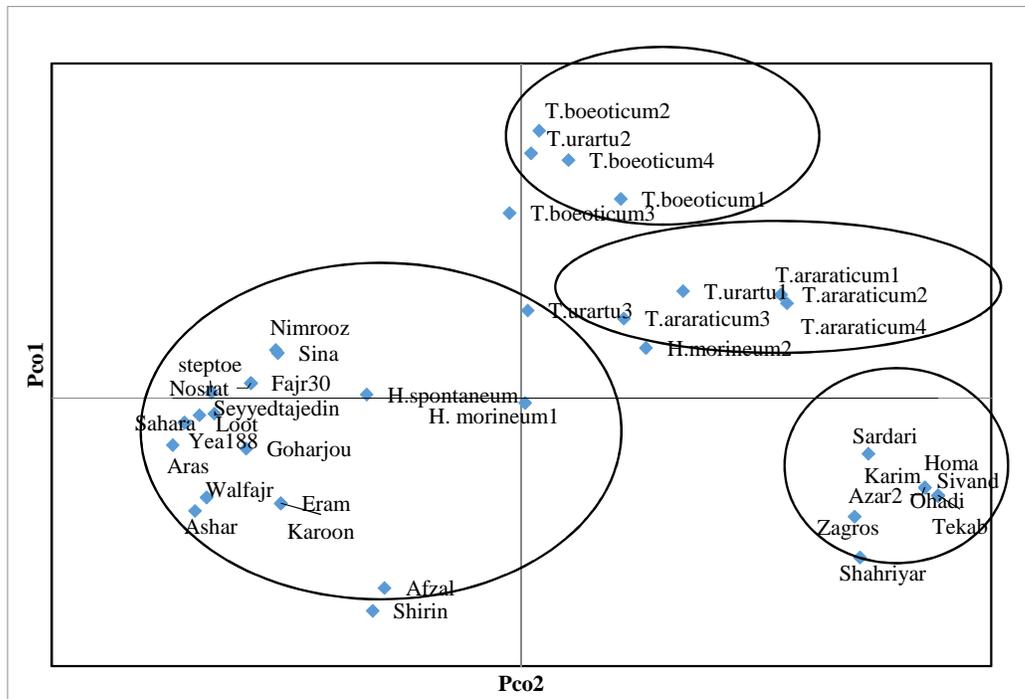


شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های جنس‌های تریتیکوم و هوردئوم بر اساس داده‌های نشانگرهای ریزماهواره جو با استفاده از الگوریتم Neighbor-Joining و ضریب فاصله Kimura-2-Parameters

Fig. 2. Grouping of *Triticum* and *Hordeum* genotypes based on barley SSR markers data using Neighbor-Joining algorithm and Kimura-2-Parameters coefficient

(شکل ۳). بردار اصلی اول، گونه‌های جنس‌های تریتیکوم و هوردئوم را از هم تفکیک کرد. براساس بردار اصلی دوم نیز ارقام زراعی گندم (*T. aestivum*) از گونه‌های خویشاوند وحشی جدا شدند. علاوه براین، گونه‌های *T. boeoticum* و *T. araraticum* نیز گروه‌های مجزایی تشکیل دادند.

در تجزیه به بردارهای اصلی، سه بردار اصلی اول به ترتیب ۴۸/۹۸، ۱۷/۸۰ و ۱۰/۵۶ درصد و در مجموع ۷۷/۳۴ درصد تغییرات مولکولی کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را تبیین کردند. پراکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس دو بردار اصلی اول مطابقت بالایی را با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد



شکل ۳- پراکنش ژنوتیپ‌های جنس‌های تریتیکوم و هوردئوم بر اساس دو بردار اول حاصل از تجزیه به بردارهای اصلی

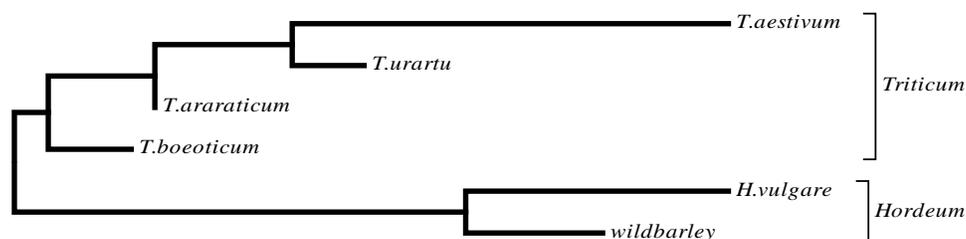
Fig. 3. Distribution of *Triticum* and *Hordeum* genotypes based on two first principal coordinates derived from principal coordinate analysis

گردید.

شاخص‌های تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای برای گونه‌های مورد مطالعه در جدول ۶ ارائه شده است. تعداد آلل متفاوت و تعداد آلل موثر به ترتیب از ۱/۳۸ (*T. aestivum*) تا ۲/۶۱ (*H. vulgare*) و ۱/۱۶ (*T. aestivum*) تا ۲/۰۹ (*H. vulgare*) متغیر بود. حداکثر و حداقل میانگین تعداد آلل خصوصی به ترتیب به گونه‌های *T. araraticum* (۰/۱۱) و *H. vulgare* (۱/۱۶) اختصاص داشت. بر اساس شاخص شانون، *T. aestivum*

در گروه‌بندی گونه‌های مورد مطالعه با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره جو، گونه‌های جنس‌های تریتیکوم و هوردئوم به دو گروه مجزا متناسب شدند و در گروه جنس تریتیکوم بیشترین شباهت مربوط به گندم نان و *T. urartu* بود (شکل ۴). در تجزیه واریانس مولکولی با در نظر گرفتن گونه‌های این دو جنس هوردئوم و تریتیکوم به عنوان دو گروه، ۴۴ و ۵۶ درصد واریانس مولکولی کل به ترتیب توسط تغییرات بین و درون گروهی تبیین

و گونه‌های وحشی جو با مقادیر ۰/۱۵ و ۰/۶۳ دارای حداقل و حداکثر تنوع درون گروهی بودند. تنوع ژنی نااریب نیز از ۰/۲۵ تا ۰/۵۱ (T. urartu) (گونه‌های وحشی جو) تغییر کرد.



شکل ۴- گروه‌بندی گونه‌های گندم و جو مورد مطالعه بر اساس الگوریتم Neighbor-Joining و ضریب فاصله نی
Fig. 4. Grouping of the wheat and barley species using Neighbor-Joining algorithm Nei's genetic distance

جدول ۶- شاخص‌های تنوع ژنتیکی درون گونه‌های مورد مطالعه بر اساس نشانگرهای ریزوماهواره جو

Table 6. Within species genetic diversity parameters based on barley SSR markers

| شاخص Index | Wild barley | H. vulgare | T. boeoticum | T. araraticum | T. urartu | T. aestivum |
|----------------------------|-------------|------------|--------------|---------------|------------|-------------|
| Number of different allele | 2.05(0.15)* | 2.61(0.55) | 1.66(0.16) | 1.66(0.16) | 1.5(0.14) | 1.38(0.16) |
| Number of effective allele | 1.94(0.15) | 2.09(0.46) | 1.74(0.12) | 1.54(0.12) | 1.40(0.13) | 1.16(0.08) |
| Shannon index | 0.63(0.08) | 0.60(0.14) | 0.37(0.08) | 0.41(0.08) | 0.30(0.08) | 0.15(0.07) |
| Number of private allele | 0.55(0.20) | 1.16(0.62) | 0.22(0.10) | 0.11(0.11) | 0.16(0.09) | 0.33(0.11) |
| Unbiased gen diversity | 0.51(0.06) | 0.34(0.07) | 0.28(0.06) | 0.32(0.06) | 0.25(0.07) | 0.27(0.04) |

*Digits within parenthesis indicate standard error

*اعداد داخل پرانتز انحراف استاندارد را نشان می دهد

تریتیکوم به زیرگروه شامل گونه‌هایی با ژنوم A و گونه‌هایی با ژنوم‌های B و D و کلاستر گونه‌های هوردئوم نیز به زیرگروه H. vulgare و H. murinum و زیرگروه H. chilense تفکیک گردید.

نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش حاضر نشان‌دهنده کارایی نشانگرهای ریزوماهواره جو در تجزیه روابط فیلوژنتیک جنس‌های هوردئوم و تریتیکوم بود، به طوری که نشانگرهای مورد استفاده علاوه بر چند انتقال‌پذیری و چند شکلی قابل قبول در گونه‌های این دو جنس، قادر به تفکیک آن‌ها براساس ساختار ژنومی و روابط تکاملی گردیدند. با توجه به اینکه یکی از مشکلات مطالعه تنوع و روابط ژنتیکی گونه‌های وحشی خوشاوند گیاهان زراعی، عدم وجود و یا تعداد کافی

خانواده گندمیان (Poaceae) با ۶۰۰ جنس و حدود ۹۰۰۰-۱۰۰۰۰ گونه شامل گونه‌های زراعی مهم مانند گندم، جو، برنج و چاودار است (Kellogg, 1998). مطالعات سیتوژنتیکی نشان‌دهنده شباهت ژنومی بین گونه‌های جنس هوردئوم، به ویژه H. chilense با ژنوم D گندم در مقایسه با ژنوم‌های A یا B می‌باشد (Cabrera et al., 1995). مطالعات کمتری برای بررسی روابط فیلوژنتیک گونه‌های هوردئوم و تریتیکوم با استفاده از نشانگرهای مولکولی انجام شده است. کاستیلو و همکاران (Castillo et al., 2008) در بررسی روابط فیلوژنتیک T. durum, T. aestivum, T. tauschii, H. vulgare, H. chilense و H. murinum با استفاده از نشانگرهای ریزوماهواره جو گونه‌های مورد مطالعه را براساس ساختار ژنوم آن‌ها گروه‌بندی کردند، بطوری که کلاستر گونه‌های

که تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس صفات مورفولوژی و فیزیولوژی مورد بررسی قرار گیرد.

سیاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز انجام شده است که بدینوسیله سیاسگزاری می‌شود.

نشانگرهای مناسب مانند نشانگرهای ریزماهواره می‌باشد و تولید چنین نشانگرهایی تا حدودی وقت‌گیر و هزینه‌بر است، انتقال‌پذیری و چندشکلی مناسب نشانگرهای ریزماهواره در این آزمایش نشان دادند که نشانگرهای ریزماهواره جو می‌توانند به عنوان ابزارهای کارآمد در بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت خویشاوندان وحشی آن‌ها مورد استفاده قرار گیرند. همچنین برای این ژرم‌پلاسم‌ها می‌توان پیشنهاد کرد

References

منابع مورد استفاده

- Adonina, I. G., E. A. Salina, E. G. Restsova and M. S. Roder. 2005. Transferability of wheat microsatellite to diploid *Aegilops* species and determination of chromosomal localization of microsatellite in the S genome. *Genome*, 48: 959-970.
- Andrew, H., J. E. Paterson, M. D. Bawers, X. D. Buraw, G. E. Christin and J. W. Robert. 2000. Comparative genomics of plant chromosomes. *Plant Cell Rep.*, 12: 1523-1539.
- Buyukunal-Bal, E. B. and M. S. Akaya. 2002. Assessment of two highly polymorphic barley microsatellite markers for detecting polymorphism in wheat. *Turk. J. Biol.*, 26: 9-12.
- Bennetzin, J. L. and M. Freeling. 1993. Grasses as a single genetic system: genome composition, collinearity and compatibility. *Trends Genet.*, 9: 259-261.
- Cabrera, A., B. Friebe, J. Jiang J and B.S. Gill. 1995. Characterization of *Hordeum chilense* chromosomes by C-banding and *in-situ* hybridization using highly repeated DNA probes. *Genome*, 38: 435-442.
- Castillo, A., H. Budak, R.V. Varshney, G. Dorado, A. Graner and P. Hernandez. 2008. Transferability and polymorphism of barley EST-SSR markers used for phylogenetic analysis in *Hordeum chilense*. *BMC Plant Biol.*, 8: 97-100.
- Castillo, A., H. Budak, A. C. Martin, G. Dorado, A. Borner, M. Roder and P. Hernandez. 2009. Interspecies and intergenus transferability of barley and wheat D-genome microsatellite markers. *Ann. Appl. Biol.*, 156: 347-356.
- Castillo, A., G. Dorado, C. Feuillet, P. Sourdille and P. Hernandez. 2010. Genetic structure and ecogeographical adaptation in wild barley as revealed by microsatellite markers. *BMC Plant Biol.*, 10: 266-279.
- Charmet, G. 2011. Wheat domestication: lessons for the future. *C. R. Biol.*, 334: 212-220.
- Doebly, J., R. Von Bothmer and S. Larson. 1992. Chloroplast DNA variation and the phylogeny of *Hordeum* (Poaceae). *Am. J. Bot.*, 79: 576-584.1
- Fahima, T., M. S. Roder, A. Grama and E. Nevo. 1998. Microsatellite DNA polymorphism divergence in *Triticum dicoccoides* accessions highly resistant to yellow rust. *Theor. Appl. Genet.*, 96: 187-195.

- Gupta, P. K., S. Rustigi, S. Sharma, R. Singh, N. Kumar and H. S. Balyan. 2003.** Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat. *Mol. Genet. Genomics*, 270: 315-323.
- Holton, T. A., J. Christopher, L. McClure, N. Harker and R. J. Henry. 2002.** Identification and mapping of polymorphic SSR markers from expressed gene sequences of barley and wheat. *Mol. Breed.* 9: 63-71.
- Kellogg, E.A. 1998.** Relationships of cereal crops and other grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 2005-2010.
- Khlestkina, E. K., M. H. M. Than, E. G. Pestsova, M. S. Röder, S. V. Malysheva, V. Korzun and A. Börner. 2004.** Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags. *Theor. Appl. Genet.*, 109: 725-732.
- Korzun, V., M. S. Röder, K. Wendehake, A. Pasqualone, C. Lotti, M. W. Ganal and A. Blanco. 1999.** Integration of dinucleotide microsatellites from hexaploid bread wheat into a genetic linkage map of durum wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 98: 1202-1207.
- Kuleung, C., P. S. Baenziger and I. Dweikat. 2004.** Transferability of SSR markers among wheat, rye, and triticale. *Theor. Appl. Genet.*, 108: 1147-1150.
- Liu, K. and S. V. Muse. 2005.** Power Marker: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, 21: 2128-2129.
- Nei, M. 1973.** Analysis of gen diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70: 3321-3323.
- Peakall, R. and P. Smouse. 2012.** GenAEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research, an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.
- Pestsova, E., V. Korzun, N. P. Goncharov, K. Hammer, M. W. Ganal and M. S. Röder. 2000.** Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. *Theor. Appl. Genet.*, 101: 100-106.
- Polgári, D., A. Cseh, É. Szakács, K. Jäger, M. Molnár-Láng, L. Sági. 2014.** High-frequency generation and characterization of intergeneric hybrids and haploids from new wheat–barley crosses. *Plant Cell Rep.*, DOI 10.1007/s00299-014-1618-3.
- Röder, M. S., J. Plaschke, S. U. König, A. Börner, M. E. Sorrells, S. D. Tanksley and M. W. Ganal. 1995.** Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.*, 246: 327-333.
- Saghai Maroof, M. A., K. Solaiman, R. A. Torgensen and R. W. Allard. 1984.** Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 8014-8018.
- Salina, E. A., I. N. Leonova, M. S. Roder, L. I. Laikova, O. I. Maystrenko, E. B. Budashkina and V. K. Shumnyi. 2001.** Wheat microsatellites: the prospects of application for gene mapping and analysis of the reconstructed genomes. *Russ. J. Plant Physiol.*, 48: 377–381.
- Shannon, C. E. 1948.** A mathematical theory of communication. *Bell Sys. Technic. J.*, 27: 379-423.
- Sourdille, P., M. Tavand, G. Charmet and M. Bernard. 2001.** Transferability of wheat microsatellites to

diploid Triticeae species carrying the A, B and D genomes. *Theor. Appl. Genet.*, 103: 346–352.

Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei and S. Kumar. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, 28: 2731-2739.

Varshney, R. K., R. Sigmund, A. Borner, V. Korzun, N. Stein, M.E. Sorrells, P. Langridge and A. Graner. 2005. Interspecific transferability and comparative mapping of barley EST-SSR markers in wheat, rye and rice. *Plant Sci.*, 168: 195-202.

Wang, M. L., N. A. Barkley, J. K. Yu, R. E. Deam, M. L. Newman, M. E. Sorrells and G. A. Pederson. 2005. Transfer of simple sequence repeat (SSR) markers from major cereal crops to minor grass species for germplasm characterization and evaluation. *Plant Genet. Resour.*, 3: 45-57.

Yildirim, A., N. Kandemir, O. Ates Sonmezoglu and T. Eserkaya Gulec. 2009. Transferability of microsatellite markers among cool season cereals. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, 23: 1299-1302.

Zhang, M., W. Mao, G. Zhang and F. Wu. 2014. Development and characterization of polymorphic EST-SSR and genomic SSR markers for Tibetan annual wild barley. *PLoS ONE* 9(4): e94881. DOI: 10.1371/ Journal Pone. 0094881.

Transferability and polymorphism of barley SSR markers in analysis of phylogenetic relationships of *Triticum* and *Hordeum* genera

Alipour, Kh.¹, S. A. Mohammadi², M. Moghadam³ and B. Sadeghzadeh⁴

ABSTRACT

Alipour, Kh., S. A. Mohammadi, M. Moghadam and B. Sadeghzadeh. 2016. Transferability and polymorphism of barley SSR markers in analysis of phylogenetic relationships of *Triticum* and *Hordeum* genera. **Iranian Journal of Crop Sciences**. 18(2): 104-119. (In Persian).

Triticum and *Hordeum* are two genera of Triticeae family with important cultivated species. Analysis of phylogenetic relationships of cultivated species and wild relatives of these genera is essential for their efficient use in breeding programs. In the present study, phylogenetic relationships of four *Triticum* and three *Hordeum* species were assessed using 150 barley microsatellite primer pairs. In total, 49 primer pairs amplified products in the both genera and 19 only in *Hordeum* species. Out of the 49 amplified markers, 21 were only polymorphic in *Triticum* species and in total, 59 alleles ranging from 2 to 5 with an average of 2.80 alleles per locus were amplified. In *Hordeum* genus using 43 polymorphic markers, 123 alleles with an average of 3.02 allele per locus and range of 2 to 14 were obtained. In two genera species, 18 polymorphic primer pairs amplified 91 alleles ranging from 2 to 19 with an average of 5.05 and gene diversity varied from 0.14 to 0.85 with a mean value of 0.59. Cluster analysis using Neighbor-Joining algorithm and Kimura-2-parameter distance coefficient and principal coordinate analysis separated the species of the two genera. In a cluster of *Triticum* genus, species were grouped based on their ploidy levels and bread wheat cultivars were separated from its wild relatives, and species with A genomes were grouped together. In *Hordeum* genus, cultivated barley was also separated from their wild relatives. Results of the present study show the efficiency of barley SSR markers in analysis of phylogenetic relationships of *Triticum* and *Hordeum* genera. In addition to reasonable transferability and polymorphism of the used markers in the species of both genera, they could also group the species based on their genomic constitution and evolutionary relationships.

Key words: Barley, Genetic diversity, SSR markers, Transferability and Wheat.

Received: Januray 2016

Accepted: August 2016

1- Former MSc. Student, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Professor, University of Tabriz, Tabriz, Iran (Corresponding author) (Email: mohammadi@tabrizu.ac.ir)

3- Professor, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4- Assitant Prof., Dryland Agricultural Research Institute, Maraghe