

مطالعه تفاوت ژنتیکی توده‌های مختلف علف‌هرز جو دره (*Horedeum spontaneum*) با

استفاده از نشانگر SSR

سیروان بابائی^۱، حسن علیزاده^۲، محمدعلی باغستانی^۳، محمدرضا نقوی^۲، سهیلا محمدی^۴

۱- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه کردستان ۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران ۳- استاد موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران ۴- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات دانشگاه ایلام

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۸

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱

چکیده

به منظور بررسی تفاوت ژنتیکی توده‌های مختلف جو دره در ایران، پژوهشی طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲ در گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران انجام شد. در این پژوهش ۴۰ توده جمع‌آوری شده از سراسر کشور با استفاده از ۱۱ نشانگر SSR مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به‌طور کل نشان داد که تعداد باندهای چند شکل از ۲ تا ۱۴ باند برای هر آغازگر متغیر بود. به‌طور متوسط ۷ باند و ۵/۶ باند چند شکل برای همه آغازگرها حاصل شد. از کل واریانس مشاهده شده، در حدود ۴۸ درصد تنوع مشاهده شده مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها و ۵۲ درصد مربوط به داخل جمعیت‌ها بود که مقدار تمایز بالای بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهد. ۴۰ توده مورد بررسی جو دره در ۵ گروه مختلف قرار گرفتند. گروه الف) شامل توده‌های استان فارس، گروه ب) شامل توده‌های یزد، چهارمحال و بختیاری، لرستان، ایلام و یک توده همدان، گروه ج) شامل توده‌های قزوین، البرز، خمین، قم و خراسان، گروه د) شامل توده‌های کردستان، آذربایجان غربی، اردبیل و قزوین و گروه ه) شامل توده‌های همدان، کردستان و کرمانشاه شدند. قرارگیری توده‌های مناطق نزدیک به هم در یک گروه، ممکن است به دلیل نفوذ این توده‌ها به داخل همدیگر، از طریق ماشین‌آلات کشاورزی و یا بذور گیاهان زراعی باشد. همچنین به احتمال زیاد فرضیه انتقال بذر جو دره از استان فارس، حداقل به مناطق دوردست مانند کرج و ورامین مردود است. آگاهی از تنوع ژنتیکی این علف‌هرز، می‌تواند منجر به پیشرفت برنامه‌های مدیریتی به منظور کنترل مؤثر این علف‌هرز مخصوصاً در مزارع گندم شود.

واژه‌های کلیدی: پراکنش علف‌هرز، تنوع ژنتیکی، نشانگر SSR.

مقدمه

عملکرد گیاهان زراعی در نتیجه رقابت بر سر آب، عناصر غذایی، نور و نیز آزادسازی ترکیبات دگر آسیب به محیط از سوی برخی علف‌های هرز کاهش می‌یابد. از این رو کشاورزان همواره در طول تاریخ با علف‌های هرز در مبارزه بوده‌اند و در این راستا به پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای نیز دست یافته‌اند. بشر مبارزه با علف‌های هرز را از طریق وجین دستی و استفاده از حیوانات شروع کرد، و در حال حاضر نیز این کار از طریق روش‌های شیمیایی و مکانیکی ادامه دارد (رستگار، ۱۳۸۱). امروزه افزایش جمعیت و کمبود مواد غذایی و سایر محدودیت‌ها، زنگ خطری است که در بسیاری از کشورها به صدا درآمده و ما را به دیدگاهی سوق می‌دهد که افزایش عملکرد در واحد سطح به عنوان مهمترین راه نجات بشر از فقر و گرسنگی می‌باشد (Khelestkina et al., 2002).

جودره (*Hordeum spontaneum* C. Koch) و نام انگلیسی (Wild barley) گیاهی است یکساله زمستانه از خانواده گندمیان که ارتباط ژنتیکی نزدیکی با جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) دارد. لازم به ذکر است که در برخی متون جدید (Shakhathreh et al., 2010; Jakob et al., 2014) جودره زیرگونه به شمار رفته و با نام علمی *Hordeum vulgare* L. *spp. spontaneum* (C. Koch) Thell. نشان داده می‌شود.

جودره اساساً خودبارور، دیپلوئید ($2n=14$)، با ارتفاع ۱ تا ۱/۵ متر، دارای گوشوارک‌های بلند و داسی شکل است که ساقه را در بر می‌گیرند (Baghestani et al., 2007). ریشک‌های بسیار بلند، مقاومت به خشکی و شوری، خواب بذر و توان دگرآسیبی از جمله ویژگی‌های بارز علف‌هرزی این گیاه است.

جودره در مناطق مختلف شرق مدیترانه و جنوب غربی آسیا (Gutterman et al., 1996) یافت شده و به‌طور گسترده‌ای در زراعت‌های زمستانه در ایران پراکنش دارد (Keshtkar et al., 2009).

پراکنش این علف‌هرز در آسیا و بیشتر در مناطقی از خاورمیانه (ایران، ترکیه، عراق، فلسطین، سوریه) و نیز جنوب آسیای مرکزی (ترکمنستان، ازبکستان و ...) می‌باشد (Harlan & Zohary, 1966; Zohary & Hopf, 2003) با این حال در بخش‌هایی از شمال آفریقا مانند مراکش نیز گزارش شده است (Molina-Cano et al., 1982). در ایران براساس گزارش باغستانی و همکاران (Baghestani et al., 2007) جودره در تمام استان‌های کشور به غیر از پنج استان سمنان، گلستان، مازندران، گیلان و سیستان و بلوچستان گزارش شده است. بالاترین فراوانی آن در استان فارس با متوسط تراکم بوته ۱/۳۴ بوته در مترمربع بوده است (Baghestani et al., 2007).

برخلاف برخی علف‌های هرز باریک برگ مانند انواع یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* Durieu) و خون‌واش (*Phalaris* sp.)، جودره در سال‌های اخیر به‌عنوان یکی از علف‌های هرز مهم و مسئله‌ساز مزارع گندم آبی ایران مطرح شده است و در برخی مناطق مانند فارس، خوزستان و کرمانشاه به‌صورت باریک برگ غالب درآمده است (Baghestani et al., 2007; Jamali & Jokar, 2010). براساس بازدیدهای انجام شده در طی سال‌های ۸۸-۱۳۸۷ از مزارع گندم، علف‌هرز جودره در بسیاری از مناطق گندم‌کاری استان‌های فارس، خوزستان و خراسان شمالی (به‌ویژه شیروان) تراکم بالایی داشت و به‌طور موردی در برخی از مزارع شهرستان‌های فسا (زاهدشهر) و شیروان، خسارت آن در گندم بیشتر از ۷۰ درصد بود. در مزارع گندم شهرستان مشهد نیز علف‌هرز جودره در کنار سایر باریک‌برگ‌ها (یولاف و چاودار) اما بیشتر در حاشیه مزارع مشاهده شد و هنوز به یک‌گونه مسئله‌ساز در داخل مزارع تبدیل نشده است (Hoseini, 2012).

در سایر کشورها تحقیقات زیادی در مورد تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف جودره (Brown et al., 1978; Volis et al., 2001; Zhang et al., 2005) و نیز استفاده از ژن‌های مطلوب جودره برای اصلاح جو زراعی و گندم مانند ژن‌های مقاومت

ژنتیکی استفاده نمودند. از میان ۱۵ جفت آغازگر، شش جفت آغازگر که چندشکلی نشان داده بودند، انتخاب شد. در مجموع از ۱۸ الل تکثیر شده تعداد ۱۷ الل چندشکلی نشان دادند. بازه باندهای آغازگرها بین ۱۰۳ تا ۳۷۹ جفت باز و میانگین تعداد الل‌های مشاهده شده ۳ الل بود. آغازگر Bmac40 با تعداد ۴ الل بیشترین مقدار PIC برابر با ۰/۶۰۹۹ و آغازگر Bmag060 با تعداد ۲ الل کمترین PIC برابر با ۰/۳۷۱۹ را دارا بودند (Saeidi et al., 2013). همچنین حیدری و همکاران (Heidari et al., 2011) در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی ۳۵ لاین و رقم جو را با استفاده از ۱۹ جفت آغازگر SSR و EST-SSR بررسی نمودند و نتیجه گرفتند که در مجموع ۱۵۷ الل چند شکل با میانگین ۷/۸۵ الل به ازای هر جفت آغازگر حاصل شد. کمترین تعداد الل مربوط به نشانگر Bmag581 با دو الل و بیشترین آن مربوط به نشانگر Bmag134 با ۱۵ الل بود، و در نهایت نشانگرهای مورد استفاده در آزمایش، توانستند ژنوتیپ‌های بسیار حساس به سرما را از بقیه ژنوتیپ‌ها تفکیک کنند. تحقیقاتی بر روی واکنش جودره به علف‌کش‌ها در سه منطقه مرودشت، کرج و کامیاران انجام شده که بیانگر پاسخ متفاوت این علف‌هرز به علف‌کش‌ها در مناطق مورد مطالعه بود (Babaei et al., 2014).

با توجه به اینکه در ایران تاکنون توده‌های مختلف علف‌هرز جودره مزارع از نظر ژنتیکی مورد مقایسه قرار نگرفته‌اند، بنابراین مطالعه‌ای با هدف اینکه آیا بین توده‌های مختلف علف‌هرز جودره ارتباط ژنتیکی وجود دارد و آیا این علف‌هرز از استان فارس به سایر نقاط کشور گسترش یافته است؟ آگاهی از تفاوت ژنتیکی توده‌ها می‌تواند پاسخی برای واکنش متفاوت این گیاه به علف‌کش در مناطق مختلف حضور آن در کشور باشد. بنابراین بطور کل هدف از انجام این مطالعه، تعیین تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف علف‌هرز جودره و یافتن پاسخی برای انتشار این گیاه در سراسر کشور بود.

به بیماری (Moseman et al., 1980) انجام گرفته است. اوادی و همکاران (El-Awady et al., 2012) به منظور مشخص کردن و انتخاب صفت‌های ۶ نمونه جو، از ۱۵ جفت پرایمر ریز ماهواره استفاده کردند که فقط ۷ جفت چندشکلی واضحی را نشان دادند. در تحقیقی رابطه فیلوژنتیک ۱۰۶ ژنوتیپ جو وحشی شامل ۵۰ ژنوتیپ جو دو ردیفه وحشی (*H. vulgare ssp. spontaneum*, HS)، ۲۹ رقم (*H. vulgare ssp. Agriocrithon*, HA) و ۲۷ رقم جو وحشی شش ردیفه (*H. vulgare ssp. agriocrithon* Var. *Langunculiforme*, HL) را با استفاده از ۳۰ نشانگر SSR بررسی کردند. براساس نتایج حاصله، کلیه ژنوتیپ‌های HS و HA در گروه‌های مجزا قرار گرفتند در حالی که ژنوتیپ‌های HL بین گروه‌های HS و HA (۱۴) ژنوتیپ در گروه HS و بقیه در گروه HA تقسیم شدند. همچنین آنها گزارش کردند که ژنوتیپ‌های HL شکل بینابین ژنوتیپ‌های HS و HA می‌باشند.

در ایران نیز در زمینه تنوع ژنتیکی جو زراعی مطالعات زیادی صورت گرفته است اما در رابطه با جودره تحقیقات اندکی انجام شده است که در ادامه به آنها اشاره خواهد شد. گنج‌خانلو و همکاران (Ganjkhanelou et al., 2012) در مطالعه تنوع ژنتیکی ۳۵ ژنوتیپ جودره با استفاده از ۳۶ جفت آغازگر ریز ماهواره در مجموع ۲۶۸ الل چند شکل با میانگین ۷/۴۴ الل به ازای هر جایگاه و تنوع ژنتیکی ۰/۰۵۳ تا ۰/۹۳۲ با میانگین ۰/۷۸ را گزارش کردند. با توجه به سازگاری و قرابت ژنتیکی جو زراعی با گونه‌های وحشی می‌توان از آنها به‌عنوان یک منبع از ژن‌های مهم در تولید هیبرید استفاده نمود. ارزیابی میزان تنوع ژنتیکی خویشاوندان وحشی جو، اساس اصلاح و حفاظت از منابع ژنتیکی به شمار رفته و در انتخاب والدین جهت تولید هیبریدهای اصلاحی بسیار کارآمد می‌باشد. سعیدی و همکاران (Saeidi et al., 2013)، در یک مطالعه از ده نمونه جودره جمع‌آوری شده از استان‌های خراسان رضوی و شمالی و فارس به منظور بررسی تنوع

مواد و روش‌ها

برای استخراج DNA از برگ‌های جوان گیاه، از روش سقایی معروف (Saghai-Marooft, 1984) استفاده شد. به منظور آگاهی از سالم و بدون شکستگی بودن DNA، مقدار ۲ میکرو لیتر از DNA بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ الکتروفورز شد. جهت بررسی کمیت DNAها از دستگاه نانودراپ استفاده شد.

در سال ۱۳۹۲، ۴۰ جمعیت علف‌هرز جودره از مناطق مختلف کشت گندم کشور جمع‌آوری شد و تا زمان انجام آزمایش در سردخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید (جدول ۱). از هر جمعیت حدود ۵ عدد بذر در گلخانه کشت شد.

جدول ۱- کد اختصاری و طول و عرض جغرافیایی توده‌های جودره جمع‌آوری شده از استان‌های مختلف ایران

Table 1- Abbreviated code, Latitude and longitude of wild barley populations from different provinces

No.	Province	Code	Longitude	Latitude
00	Fars	FEQID	52°39'8.94"E	30°53'57.56"N
01	"	FFASA	53°41'38.8"E	28°57'15.47"N
02	"	FMSOL	53° 2'4.32"E	29°57'1.42"N
03	"	FMGSH	52°44'39.7"E	30° 3'2.97"N
04	"	FMGHO	52°39'28.5"E	29°57'29.33"N
05	"	MIBOD	54° 2'57.30"E	32°14'52.35"N
06	ChahrMahal Bakhtiari	SHFRX	51°37'07.5"E	32°27'04.07"N
07	"	SHKAK	50°47'05.2"E	32°26'09.35"N
08	"	SHSHK	50°51'01.4"E	32°16'03.75"N
09	"	SHSHL	51°21'02.6"E	32°04'09.02"N
10	"	SHARD	51°05'04.6"E	32°39'07.78"N
11	Lorestan	BOPAD	48°40'40.0"E	33°56'25.87"N
12	"	BOROJ	48°45'43.2"E	33°52'46.17"N
13	Ilam	IILAM	46°24'4.85"E	33°38'55.57"N
14	Hamedan	HAHID	48°27'07.1"E	34°49'02.57"N
15	"	HAMOD	48°29'02.4"E	34°48'04.99"N
16	Kermanshah	KRSHL	46°38'35.1"E	34°41'26.95"N
17	"	KRHON	46°39'27.3"E	34°42'28.97"N
18	"	KJTPB	46°31'31.8"E	34°46'25.49"N
19	"	KJSAF	46°31'10.7"E	34°47'14.40"N
20	"	KKDKE	47° 6'50.28"E	34°23'4.61"N
21	Kurdistan	KKJJK	46°57'1.22"E	34°59'7.98"N
22	"	KKVAR	46°54'40.5"E	34°47'47.25"N
23	"	KKCHO	46°43'06.8"E	34°55'03.19"N
24	"	KSSAH	47° 1'21.87"E	35°16'6.79"N
25	"	KMTER	46°12'11.5"E	35°31'28.70"N
26	West Azarbayjan	AGOSH	45°08'08.6"E	37°04'43.81"N
27	"	AGORM	45°08'40.3"E	37°20'29.32"N
28	"	ASHTA	46°11'53.2"E	38° 6'21.41"N
29	Ardabil	APART	47°54'48.7"E	39°37'26.61"N
31	Lorestan	LOKOJ	48° 8'20.66"E	33°29'57.51"N
32	"	LOALI	49°41'41.5"E	33°23'41.99"N
33	"	LOALE	48° 1'9.79"E	34° 1'37.03"N
34	Ghazvin	GHABI	50°31'24.5"E	36° 0'39.40"N
35	"	GHGHA	49°56'3.11"E	36°17'8.02"N
36	Alborz	ALKDA	50°57'6.53"E	35°48'22.28"N
37	"	ALKKA	50°50'55.8"E	35°51'50.44"N
38	Markazi	MKHOG	49°59'26.7"E	33°34'35.56"N
39	Ghom	GHGHO	50°55'58.1"E	34°37'19.90"N
40	"	GHDAS	50°16'12.9"E	34°32'18.06"N
41	Khorasan	KHOMD	59°32'54.3"E	36°17'57.99"N
42	"	KHONS	58°74'51.9"E	36°19'07.95"N

نشان‌دهنده میزان چندشکلی یک نشانگر می‌باشد و میانگینی از همه مکان‌های ژنی یک آغازگر است. این آماره می‌تواند از صفر تا یک متغیر باشد که با استفاده از فرمول

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

در نرم‌افزار Excel محاسبه شد. بطوریکه P_i فراوانی الل i ام و n تعداد الل‌ها بود (Roldan-Ruiz *et al.*, 2000). همچنین میزان شاخص نشانگر (MI) با استفاده از فرمول $\beta MI = PIC \times N$ محاسبه شد، بطوریکه N تعداد کل باند و β نسبت تعداد باند چند شکل به تعداد کل باند بود (Ranjbar *et al.*, 2007).

پارامترهای تنوع ژنتیکی شامل میانگین تعداد الل‌های مشاهده شده (Na)، میانگین تعداد الل‌های مؤثر (Ne)، میانگین شاخص اطلاعاتی شانون (I)، میانگین هتروزیگوسیتی یا تنوع ژنی نی (h)، تعداد و درصد الل‌های چند شکل، بررسی و شباهت و تفاوت ژنتیکی نی (Nei, 1978) بر اساس برآورد ناریب^۲ بین جمعیت‌های مورد مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار GENAIE ver. 6.4 (Peakall & Smouse, 2006) محاسبه شد. تجزیه خوشه‌ای برای جمعیت‌های مورد بررسی بر اساس ضریب تشابه دایس و الگوریتم UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc 2.02 ترسیم شد. تجزیه خوشه‌ای به‌منظور گروه‌بندی و بررسی ارتباط بین توده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PAST انجام شد. (Roy *et al.*, 2006).

برای تکثیر از DNAهای با غلظت $50 \text{ ng}/\mu\text{L}$ (۵۰ نانوگرم در میکرو لیتر) استفاده شد، حجم نهایی واکنش ۱۵ میکرو لیتر بود که در داخل میکروتیوب‌های ۰/۲۵ میلی لیتری و ترکیب واکنش بر اساس روش رودر با کمی تغییر انجام شد (Roder *et al.*, 1998).

برای فرایند PCR از نشانگر مولکولی SSR استفاده شد. مشخصات ۱۱ جفت آغازگر مورد استفاده در جدول ۲، همچنین ترکیب مواد و مقادیر آنها نیز در جدول ۳ عنوان شده است. برای هر آغازگر در هر نمونه، بجز DNA بقیه مواد با نمونه‌های دیگر مشترک است. در این آزمایش از دستگاه ترموسایکلر Bio-Rad استفاده شد. چرخه‌های دمایی واکنش PCR با توجه به دمای آغازگر در جدول ۴ آمده است. همان‌طوری که در جدول ۴ ملاحظه می‌شود برنامه PCR آغازگر SSR به صورت Standard می‌باشد.

الکتروفورز محصولات PCR در ژل پلی اکریلامید ۶٪ انجام شد. برای انجام الکتروفورز از سیستم ژل عمودی استفاده گردید. برای تهیه ژل، مقادیر ۷۰ میلی لیتر محلول اکریلامید ۶٪، ۶۰۰ میکرو لیتر آمونیوم پرسولفات ۱۰ درصد (APS) (10% استفاده شد. پس از آماده شدن ژل و رسیدن دستگاه به دمای ۵۲ درجه سانتیگراد، مقدار ۸ میکرو لیتر از محصولات PCR با ۷ میکرو لیتر بافر بارگذاری فرامید^۱ مخلوط گردید و در چاهک‌ها ریخته شد. سپس به مدت یک ساعت و ۳۰ دقیقه با ولتاژ ۸۰ وات و دمای ۵۲ درجه سانتیگراد الکتروفورز گردید. به‌منظور مشاهده قطعات DNA در ژل، رنگ‌آمیزی نترات نقره به کار رفت که مراحل رنگ‌آمیزی طبق روش Bassam & Gresshoff (2007) انجام شد.

رتبه‌بندی و تجزیه تحلیل داده‌های حاصل از الکتروفورز: نمره‌دهی باندها بر اساس وجود باند (۱) و عدم وجود باند (۰) صورت گرفت. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)

^۲. Unbiased

^۱. Formamide dye

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در فرایند PCR در مطالعه تنوع ژنتیکی جو دره

Table 2- The profile of primers used in the PCR in the study of genetic diversity of wild barley

(Varshney *et al.*, 2007)

Name	Primer sequence	Special number	Repeat motif	Annealing temperature) C°
BMAC0399 F	CGA TGC TTT ACT ATG AGA GGT	1	(AC)21	57.5
BMAC0399 R	GGG TCT GAA GCC TGA AC			54.9
BMAC0032 F	CCA TCA AAG TCC GGC TAG	2	(AC)7T(CA)15(AT)9	56.3
BMAC0032 R	GTC GGG CCT CAT ACT GAC			58.4
BMAC0134 F	CCA ACT GAG TCG ATC TCG	3	(AC)28	56.3
BMAC0134 R	CTT CGT TGC TTC TCT ACC TT			56.4
BMAG0125 F	AAT TAG CGA GAA CAA AAT CAC	4	(AG)19	53.4
BMAG0125 R	AGA TAA CGA TGC ACC ACC			53.8
HVM36 F	TCC AGC CGA CAA TTT CTT G	5	(GA)13	55
HVM36 R	AGT ACT CCG ACA CCA CGT CC			62.5
BMAC0067 F	AAC GTA CGA GCT CTT TTT CTA	6	(AC)18	55.4
BMAC0067 R	ATG CCA ACT GCT TGT TTA G			53
GBM1110 F	CAC CGA AGA AAA TCC ACC AT	7	(AAG)6	56.4
GBM1110 R	CAC GCA AGC TTA GAA CCT CC			60.5
BMAG0006 F	TTA AAC CCC CCC CCT CTA G	8	(AG)17	59.5
BMAG0006 R	TGC AGT TAC TAT CGC TGA TTT AGC			62
BMAG0603 F	ATACCATGATACATCACATCG	9	(AG)24	56.8
BMAG0603 R	GGGGGTATGTACGACTAACTA			59.3
BMAG0223 F	TTA GTC ACC CTC AAC GGT	10	(AG)16	53.8
BMAG0223 R	CCC CTA ACT GCT GTG ATG			56.3
AF022725A F	AGTATGGGGAATTTATTGG	11	(TG)8	54.7
AF022725A R	GCTGCAAAGTATGACAATATG			56.9

جدول ۳- حجم و ترکیبات واکنش مواد تکثیر DNA در PCR در مطالعه تنوع ژنتیکی جو دره

Table 3- Volume and composition of DNA amplification products in PCR reaction in the study of genetic diversity of wild barley

Stock solution	Final concentration	Amount for 15 microliter (μL)
Distilled water	---	7.1
Taq enzyme buffer (10 fold)	One fold	1.5
MgCl ₂ (25 milemolar)	2 mile molar	1.2
dNTP (10 milemolar)	0.67 mile molar	1
Forward primer (10 Pico mole)	0.67 mile molar	1
Reverse primer (10 Pico mole)	0.67 mile molar	1
DNA Taq polymerase (5 unit/microliter)	One unit	0.2
DNA (50 Nanogram/microliter)	100 Nano gram	2
Sum		15

جدول ۴- زمان و دمای لازم برای مراحل مختلف واکنش PCR در مطالعه تنوع ژنتیکی جو دره

Table 4- PCR reaction time and temperature required for different stages in the study of genetic diversity of wild barley

Stage	Carried out reaction	Temp. (C°)	Time (minute)	No. of cycles
1	DNA initial denaturation	94	4	1
2	DNA denaturation	94	30 Sec.	1
3	Connecting primer to the template strand	Depends on primer	30 Sec.	1
4	Development new strand	72	30 Sec.	1
5	Replicate stage 2-4	-	-	30
6	Final Development	72	7	1

نتایج و بحث

درصد برای آغازگر BMAG0603 با کمترین درصد چندشکلی تا ۱۰۰ درصد برای آغازگر BMAC0032 با بیشترین درصد چندشکلی، متغیر بود (جدول ۵). با توجه به تحقیق انجام شده تنوع ژنتیکی ۳۵ رقم جو، با استفاده از ۱۹

اطلاعات چندشکلی: میانگین ۷ باند و ۵/۶ باند چند شکل برای همه آغازگرها حاصل شد. درصد چندشکلی از ۵۰

چند شکلی برای نشانگر RAPD و ISSR به ترتیب ۰/۵۷۴ و ۰/۶۳۱ بود. در تجزیه RAPD، ۸۴ تا از ۱۰۹ باند ۷۷/۰۶ درصد چند شکل بودند و در تجزیه ISSR از مجموع ۱۰۷ نشانگر شناسایی شده، ۱۰۵ نشانگر چند شکلی نشان دادند.

نتایج همچنین نشان داد که میزان اطلاعات چند شکل یا PIC برای هر آغازگر متفاوت بود و عدد ثابتی نداشت که می‌تواند به عواملی مثل تعداد الل تولیدی توسط هر جایگاه، محتوای نوکلئوتیدهای G و T در نواحی تکرار شونده (که همبستگی مثبتی با محتوای چندشکلی دارد) و طول توالی تکراری وابسته باشد (Roder *et al.*, 1998; Beckie *et al.*, 2000).

تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها: به‌منظور بررسی روابط بین جمعیت‌ها، شاخص‌های بین جمعیتی برای تک‌تک آغازگرها به‌طور جداگانه بررسی شد (جدول ۶). اولین شاخص، تنوع ژنتیکی کل (H_T) می‌باشد که میانگین آن ۰/۲۴ به دست آمد که از ۰/۱۴ برای آغازگر BMAC0067 تا ۰/۴ برای آغازگر HVM36 متغیر بود. در مقایسه تنوع ژنتیکی در مطالعه *et al.*, 2011 Heidari، دو نشانگر Bmag581 و Ebmac419 به ترتیب کمترین ۰/۱۷ و بیشترین ۰/۹ مقدار را داشتند. از نظر شاخص تنوع ژنتیکی داخل جمعیتی (H_S) با میانگین ۰/۱۲ آغازگر BMAG0223 با متوسط ۰/۰۵ تا ۰/۲۳ در آغازگر BMAG0603 متغیر بود (جدول ۶). این مقدار متأثر از ضریب تمایز ژنی بین جمعیت‌ها بوده و همبستگی منفی با آن دارد. در بین آغازگرهای مورد بررسی بیشترین جریان ژنی در میان جمعیت‌ها برای آغازگر BMAC0032 و کمترین مقدار آن برای آغازگرهای BMAG0223 محاسبه شد. میانگین ضریب تمایز ژنی بین جمعیت‌ها (GST) برای آغازگرها ۰/۴۴ به دست آمد. محاسبه این شاخص از ۰/۱۳ برای آغازگر BMAC0032 تا ۰/۷ برای آغازگر BMAG0223 متفاوت بود.

جفت آغازگر SSR، در مجموع ۱۵۷ الل چند شکل با میانگین ۷/۸۵ الل به ازای هر جفت آغازگر حاصل شد (Heidari *et al.*, 2011). از آنجائی که میانگین تعداد الل هر نشانگر ریز ماهواره، مناسب بودن هر مکان ژنی را برای تخمین تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد (Roder *et al.*, 1998). بنابراین، آغازگرهای که تعداد الل چند شکل زیادی نشان داده‌اند برای بررسی تنوع ژنتیکی مناسب تشخیص داده می‌شوند. محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۳۹ در آغازگر BMAG0223 تا ۰/۷۷ در آغازگر HVM36 متغیر بود (جدول ۵). در تحقیق سعیدی و همکاران (۱۳۹۲) بر روی جو دره به هدف شناسایی ژن‌های مفید جهت اصلاح جو زراعی، بیشترین تعداد الل مربوط به آغازگر Bmac40 با چهار الل که دارای بیشترین مقدار PIC برابر با ۰/۶۰۹۹ و کمترین تعداد مربوط به آغازگر Bmag0603 با دو الل که کمترین مقدار PIC برابر ۰/۳۷۱۹ را نیز داشت، حاصل شد (Saeidi *et al.*, 2013). همچنین در تحقیق حیدری و همکاران (۱۳۹۰)، کمترین تعداد الل مربوط به نشانگر Bmag581 با دو الل و بیشترین آن مربوط به نشانگر Bmag134 با ۱۵ الل بود. میزان اطلاعات چند شکلی در این مطالعه برای نشانگرهای مورد بررسی بین ۰/۱۵ تا ۰/۸۹ با میانگین ۰/۶۹ بود که بیشترین مقدار به نشانگر Ebmac419 و کمترین آن به نشانگر Bmag581 تعلق داشت. (Heidari *et al.*, 2012). مقادیر بالای این معیار دلالت بر چندشکلی بالا و وجود الل یا ال‌های نادر در یک جایگاه نشانگری است که در تفکیک و تمایز افراد نقش بسزایی دارد (Agrama & Tuinstra, 2006). بنابراین آغازگر HVM36 با بیشترین مقدار PIC، بهتر از سایر نشانگرها توانست فاصله ژنتیکی نمونه‌ها را مشخص کند.

هو و همکاران (Hou *et al.*, 2005) از نشانگرهای RAPD و ISSR برای بررسی تنوع ژنتیکی ۴۶ ژنوتیپ جو زراعی استفاده کردند، میانگین میزان اطلاعات

جدول ۵- مشخصات آغازگرها و میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) و درصد چندشکلی گیاه جودره

Table 5- The profile of primers and polymorphism information content (PIC) and the percentage of Wild Barley polymorphism

Name	Primer Sequence (5' → 3') (L=Left, R=Right)	No. of polymorphic bond	No. of observed bond	% of polymorphism	Polymorphism information content (PIC)
BMAC0399	L-CGA TGC TTT ACT ATG AGA GGT R -GGG TCT GAA GCC TGA AC	5	6	83	0.41
BMAC0032	L-CCA TCA AAG TCC GGC TAG R GTC GGG CCT CAT ACT GAC	5	5	100	0.55
BMAC134	L-CCA ACT GAG TCG ATC TCG R-CTT CGT TGC TTC TCT ACC TT	5	7	71	0.50
BMAG0125	L-AAT TAG CGA GAA CAA AAT CAC R-AGA TAA CGA TGC ACC ACC	7	8	87	0.67
HVM36	L-TCC AGC CGA CAA TTT CTT G R -AGT ACT CCG ACA CCA CGT CC	4	5	80	0.77
BMAC0067	L-AAC GTA CGA GCT CTT TTT CTA R-ATG CCA ACT GCT TGT TTA G	8	10	80	0.41
GBM1110	L-CAC CGA AGA AAA TCC ACC AT R-CAC GCA AGC TTA GAA CCT CC	7	9	77	0.53
BMAG6	L-TTA AAC CCC CCC CCT CTA G R-TGC AGT TAC TAT CGC TGA TTT AGC	14	16	87	0.44
BMAG0603	L-ATACCATGATACATCACATCG R-GGGGGTATGTACGACTAACTA	2	4	50	0.72
BMAG0223	L-TTA GTC ACC CTC AAC GGT R-CCC CTA ACT GCT GTG ATG	2	3	66	0.39
AF022725A	L-AGTATGGGGAATTTATTTGG R-GCTGCAAAGTATGACAATATG	3	4	75	0.65

و برای جمعیت خراسان کمترین بود. در این تحقیق به‌ویژه بین تنوع ژنی نی (He) و شاخص اطلاعاتی شانون (I) همبستگی مثبتی مشاهده شد با توجه به اینکه تنوع ژنی (He) و شاخص اطلاعاتی شانون (I) بیشترین تنوع را در جمعیت کرمانشاه نشان داد با این موضوع که مرکز پیدایش جودره نواحی غرب کشور می‌باشد (Maleki *et al.*, 2006). مطابقت دارد (جدول ۶).

آماره GST نسبت تنوع ژنتیکی بین جمعیت را به تنوع کل نشان می‌دهد. بنابراین ۴۴ درصد تنوع مشاهده شده مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها و ۵۶ درصد آن مربوط به داخل جمعیت‌ها است که مقدار تمایز بالای بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهد. تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها: میانگین الل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد الل‌های مؤثر (Ne)، تنوع ژنی (He) و شاخص اطلاعاتی شانون (I) در جمعیت کرمانشاه بیشترین

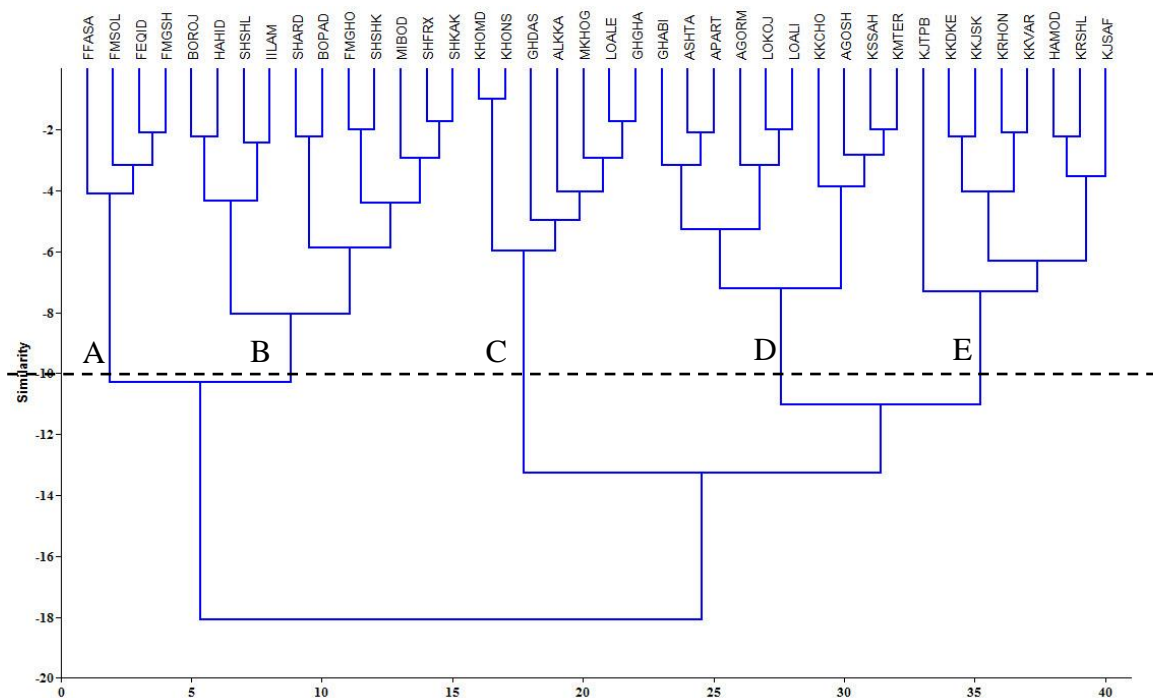
جدول ۶- شاخص‌های تنوع ژنتیکی: شاخص اطلاعاتی شانون (I)، تنوع ژنی (He)، میانگین الل‌های مشاهده شده (Na)، و تعداد الل‌های مؤثر (Ne)، جودره در توده‌های مورد بررسی

Tab 6- Genetic diversity indices: Shannon's information index (I), gene diversity (He), average observed alleles (Na), and effective number of alleles (Ne) of wild barley populations

Population / Indexes	I±SE	H±SE	Na±SE	Ne±SE
Fars	0.24 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.98 ± 0.12	1.27 ± 0.04
ChahrMahal Bakhtiari	0.18 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.85 ± 0.11	1.19 ± 0.03
Lorestan	0.27 ± 0.03	0.18 ± 0.02	1.07 ± 0.11	1.32 ± 0.04
Hamedan	0.12 ± 0.03	0.08 ± 0.02	0.63 ± 0.1	1.46 ± 0.03
Kermanshah	0.28 ± 0.03	0.18 ± 0.02	11.14 ± 0.12	1.31 ± 0.04
Kordistan	0.19 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.84 ± 0.11	1.22 ± 0.04
Azarbayejan	0.18 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.82 ± 0.11	1.21 ± 0.04
Alborz	0.16 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.73 ± 0.11	1.18 ± 0.04
Ghom	0.13 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.65 ± 0.01	1.15 ± 0.03
Khorasan	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.009	0.31 ± 0.06	1.02 ± 0.01

H. (2002)، تنوع ژنتیکی سه گروه از ژرم پلاسما جو (*H. vulgaris*, *H. spontaneum* و لاین‌های پیشرفته الیت) را با استفاده از نشانگرهای SSR مورد بررسی قرار دادند. در ۱۴۷ ژنوتیپ مورد بررسی، مجموعاً ۶۸۷ آلل در ۴۲ جایگاه تکثیر شد. تعداد ال‌ها در هر جایگاه از ۴ تا ۳۱ با میانگین ۱۶/۳ ال متغیر بود. در گونه *H. spontaneum* میانگین تعداد ال در هر جایگاه برابر با ۳/۱۰ در گونه *H. vulgare*، ۳/۸ و در لاین‌های اصلاحی الیت ۸/۵ ال برای هر جایگاه بود. میزان اطلاعات چند شکلی از ۰/۸۰ تا ۰/۹۴ متغیر بود. تجزیه مولکولی تنوع بالایی را در جمعیت اجدادی و همچنین در والدین جمعیت‌های در حال تفرق نشان داد ولی سطح تنوع ژنتیکی در داخل ژرم پلاسما پیشرفته الیت پایین بود، و نهایتاً ژنوتیپ‌های جمعیت اجدادی به چهار گروه اصلی تقسیم شدند و گروه بندی انجام شده با منشا جغرافیایی مطابقت داشت..

تجزیه خوشه‌ای: تجزیه جمعیت‌های مختلف نشان داد که تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم UPGMA تا اندازه‌ای توانسته است توده‌ها را به خوبی از هم تفکیک کند. تجزیه خوشه‌ای برای جمعیت‌های مختلف انجام شد و به طور کل در ۵ گروه قرار گرفتند (شکل ۱). جمعیت قم و خراسان هرکدام در گروه‌های مختلف و سایر جمعیت‌ها در یک گروه قرار گرفتند. برخی از توده‌ها در گروه‌های مختلف قرار گرفتند که می‌توان گفت احتمالاً بدلیل جابجایی بذر جمعیت‌ها در برخی استان‌ها صورت گرفته است. بطوریکه در مورد دو توده سندج و کامیاران شاید بتوان این احتمال را عنوان کرد که بذور آنها با هم اختلاط و یا جابجایی در بین آنها صورت گرفته باشد. اما توده‌های استان فارس به خوبی از سایر استان‌ها تفکیک شده‌اند. در مطالعه‌ای که بر روی تنوع ژنتیکی ارقام جو زراعی انجام شده بود، تجزیه خوشه‌ای براساس داده‌های مولکولی، ژنوتیپ‌های جو زراعی را به پنج گروه تقسیم کرد (Heidari et al., 2011). ماتوس و هایز (Matus & Hayes,)



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای توده‌های مختلف جو دره با روش دایس با استفاده از الگوریتم UPGMA

Figure 1- Cluster analysis dendrogram for different wild barley populations with Dias using UPGMA algorithm

مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها و ۵۶ درصد آن مربوط به داخل جمعیت‌ها است که مقدار تمایز بالای بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهد. در مجموع سهم تنوع بین جمعیت‌ها از تنوع داخل آنها کمتر بود این نتیجه بیانگر جریان ژنی بسیار ناچیز بین مناطق مختلف می‌باشد. جریان ژنی متأثر از عوامل مختلفی مانند دگرگشتی و یا انتقال بذر بین مناطق مختلف می‌باشد. خودگشن بودن گیاه جو دره و همچنین عدم انتقال و پراکنش بذر آن در بین مناطق با فاصله زیاد، ممکن است دلیل پایین بودن درصد واریانس مولکولی بین جمعیت‌های جو دره باشد. ممکن است به دلیل تشابه زیاد جو دره مناطق نزدیک به هم، توده‌های استان‌های هم‌جوار به داخل هم‌دیگر نفوذ کرده و پراکنش یافته‌اند. همچنین به احتمال زیاد فرضیه منتشر نشده انتقال بذر جو دره از استان فارس حداقل به مناطق دوردست مردود است. بنابراین تنوع بیشتر گیاه جو دره در توده‌های مانند کرمانشاه، تا حدی با نتایج حاصل از تحقیقات اخیر مبنی بر تنوع بالای یک گونه در یک منطقه، بیانگر خاستگاه آن گیاه در آن منطقه می‌باشد، مطابقت دارد. بنابراین حضور گسترده این علف‌هرز در مزارع و مراتع استان‌های کرمانشاه و کردستان، نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر می‌باشد. همچنین تنوع ژنتیکی بالای این علف‌هرز در استان‌های غربی کشور، زنگ خطری برای بروز مقاومت سریع‌تر این علف‌هرز نسبت به علف‌کش‌های پرمصرف مزارع گندم نسبت به سایر مناطق می‌باشد.

بنابراین با توجه به تنوع بسیار بالای این علف‌هرز در توده‌های کرمانشاه، و همچنین طبق گزارش‌هایی مبنی بر اینکه در یک منطقه جغرافیایی تنوع بالای یک توده، احتمالاً نشان‌دهنده خاستگاه اصلی آن گونه می‌باشد که توسط محققین برای گونه‌ای از گندم عنوان شده است (Maleki et al., 2006)، که خاستگاه اصلی این گیاه در ایران، مربوط به مناطق غرب کشور می‌باشد. بنابراین حضور گسترده این علف‌هرز در مزارع و مراتع استان‌های کرمانشاه و کردستان، نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر از نقطه نظر تحمل یا مقاومت آنها به علف‌کش‌های ریسک بالا و بطور کل دیدگاه مدیریتی علف‌های هرز می‌باشد. علف‌های هرز دیگری مانند یولاف، خونی‌واش و چچم نیز توسط محققین گزارش شده‌اند که داشتن تنوع ژنتیکی بالا موجب احتمال بروز بیشتر مقاومت به علف‌کش‌ها در این گیاهان شده‌اند (Mengistu et al., 2005; Yu et al., 2007). بنابراین تنوع ژنتیکی بالای این علف‌هرز در کرمانشاه، احتمالاً زنگ خطری برای بروز مقاومت سریع‌تر این علف‌هرز نسبت به علف‌کش‌های پرمصرف نسبت به سایر مناطق می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

بطورکل نتایج نشان داد که تعداد باندهای چند شکل از ۲ تا ۱۴ باند برای هر آغازگر متغیر بود. به‌طور متوسط ۷ باند و ۵/۶ باند چند شکل برای همه آغازگرها حاصل شد. از کل واریانس مشاهده شده، در حدود ۴۴ درصد تنوع مشاهده شده

منابع

- Agrama, H. and Tuinstra, M.R. 2003. Phylogenetic diversity and relationship among *Sorghum* accessions using SSRs and RAPDs. *Afr. J. Biotechnol.* 2: 334-340.
- Babaei, S., Alizadeh, H., Baghestani, M.A. and Naghavi, M.R. 2014. Evaluation the effect of some adjuvants on *Hordeum spontaneum* control in wheat at three different locations. *Iranian J. Weed Sci.* 14: 22-35.
- Baghestani, M.A., Zand, E., Moeini, M.M. and Atri, A.R. 2007. Review of the research on wild barley control in wheat fields. *Proceeding of 2nd Iranian weed congress, Mashhad, Iran.* 58-76.
- Bassam, B.J. and Gresshoff, P.M. 2007. Silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Nat. Protoc.* 2: 2649-2654.
- Beckie, H.J., I.M. Heap, R.J. Smeda and L.M. Hall. 2000. Screening for herbicide resistance in weeds. *Weed Technol.* 14: 428- 445.
- Brown, A.H.D., D. Zohary, and E. Nevo. 1978. Outcrossing rates and heterozygosity in natural

- populations of *Hordeum spontaneum* Koch in Israel. *Heredity*. 41: 49-62.
- El-Awady, A.M., M. El-Tarras, A.E. Adel. 2012. Genetic diversity of some Saudi barely (*Hordeum vulgare*) landraces based on microsatellite markers. *Am. J. Appl. Sci.*, 752-758.
- Ganj Khanlou, A., Mohammadi, S.A., Moghadam, M., Ghasemi Gholezani, K., Shakiba, M.R. and Yousefi, A. 2012. Genetic diversity in barley as revealed by microsatellite markers and association analysis of these markers by traits related to freezing tolerance. *Seed & Plant Impro. J.* 28: 101-114.
- Gutterman, Y., Corbineau, F. and Come, D. 1996. Dormancy of *Hordeum spontaneum* caryopses from a population on the Negev Desert Highlands. *J. Arid Env.*, 33, 337-345.
- Harlan, J.R., and D. Zohary. 1966. Distribution of wild wheats and barley. *Science*. 153: 1074-1080.
- Heidari, A., S.A. Mohammadi, M. Moghadam, M.R. Shakiba, K. Ghasemi Gholezani, and A. Yousefi. 2011. Analysis of genetic diversity in barley genotypes using SSR and EST-SSR markers. *Iranian J. Crop Sci.*, 13:146-156.
- Hoseini, S.A. 2012. Evaluation the *Hordeum spontaneum* chemical control in wheat and determine the connection between herbicide efficacy and P450 cytochrome enzyme monooxygenase. PhD thesis in Weed Science. Ferdosi Mashhad University. Pp. 110.
- Hou, Y.C., Yan, Z.H., Wei, Y.M. and Y.L. Zheng. 2005. Genetic diversity in barley from west China based on RAPD and ISSR analysis. *Barley Gen. Ne.*, 35:9-22.
- Jakob, S.S., D. Rodder, J.O. Engler, S. Shaaf, H. Ozkan, F.R. Blattner, and B. Kilian. 2014. Evolutionary history of wild barley (*Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum*) analyzed using multilocus sequence data and paleodistribution modeling. *Genome Biol. Evol.*, 6:685-702.
- Jamali, M.R. and Jokar, L. 2010. Effect of rotation in *Hordeum spontaneum* control in Fars province wheat fields. *Crop Protect. Agri. Sci. Ind.*, 24: 99-107.
- Keshtkar, E., Kordbacheh, F., Mesgaran, M.B., Mashhadi, H.R. and Alizadeh, H.M. 2009. Effects of the sowing depth and temperature on the seedling emergence and early growth of wild barley (*Hordeum spontaneum*) and wheat. *Weed Biol. & Manag.* 9: 10-19.
- Khelestkina E.K., E.G. Pestsova, E. Salina, M.S. Roder, V.S. Abruzova, S.F. Koval and A. Borner. 2002. Genetic mapping and tagging of wheat Genes using RAPD, STS and SSR markers. *Cell. Mol. Biol. Lett.* Vol.(7). Pp: 795-802.
- Maleki, M., Naghavi, M.R., Alizadeh, H. and Mardi, M. 2006. Study the genetic diversity of west Iranian *Triticum boeoticum* wild populations using RAPD and AFLP. MSc thesis in Biotechnology. University of Tehran. Pp. 112.
- Matus, I.A. and P.M. Hayes. 2002. Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome*. 45: 1095-1106.
- Mengistu L.W., C.G. Messersmith, & M.J. Christoffers. 2005. Genetic diversity of herbicide-resistant and -susceptible *Avena fatua* populations in North Dakota and Minnesota. *Weed Res.* 45: 413-423.
- Molina-Cano, J.I., C. Gomez-Campo, and J. Conde. 1982. *Hordeum spontaneum* C. Koch as a weed of barley fields in Morocco. *Z. Pflanzenzucht.* 88: 161-167.
- Moseman, J.G., Baenziger, P.F., Kilpatrick, R.A. 1980. *Hordeum spontaneum*- an overlooked source of disease resistance. *Eur. Medit. Cereal Rust Found.* 91-93.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89:583-590.
- Peakall R. and Smouse, P.E. 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes.* 6:288-295.
- Ranjbar, M., M.R. Naghavi and A. Zali. 2007. Evaluation of morphological and molecular diversity in Iranian accessions of *Aegilops crassa*. M.Sc. thesis in Plant breeding, University of Tehran. Pp. 94.
- Roder, M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.H. Tixier, P. Leroy and M.W. Ganal. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics*. 149:2007-2023.
- Roldan-Ruiz I., Dendauw, J. E., Van Bockstaele, A. Depicker, De M. Loose. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Mol. Breed.* 6: 125-134.
- Roy, J.K., Bandopadhyay, R., Rustgi, S., Balyan, H.S. and Gupta, P.K. 2006. Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. *Curr. Sci.* 90: 5-10.

- Saeidi, S., Karimishahri, M.R., Bazoubandi, M., Dehvari, V. and Ghezelseflou, N. 2013. Assessment of genetic diversity of some *Hordeum spontaneum* C. Koch. genotypes using SSR markers. Proceeding of 5th Iranian weed congress, Karaj, Iran. 1536-1539.
- Saghai-Maroof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen, and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacerlength polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences. USA. 81: 8014-8018.
- Shakhatreh, Y., Haddad, N., Alrababah, M., Grando, S., Ceccarelli, S. 2010. Phenotypic diversity in wild barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *spontaneum* (C. Koch) Thell.) accessions collected in Jordan. Genet. Resour. Crop Evol. 57: 131-146.
- Varshney, R.K., Marcel, T.C., Ramsay, L., Russell, J., Roder, M.S., Stein, N. R., Waugh. P. Langridge, R.E. Nix, A. Graner. 2007. A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. Theor. Appl. Genet. 114: 1091-1103.
- Volis, S., S. Mendlinger, Y. Turuspekov, U. Esnazarov, S. Abugalieva, and N. Orlovsky. 2001. Allozyme variation in Turkmenian populations of wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch.). Ann. Bot. 87: 435-446.
- Yu, Q., A. Collavo, M.Q. Zheng, M. Owen, M. Sattin, & S.B. Powles. 2007. Diversity of acetyl-coenzyme A carboxylase mutations in resistant *Lolium* populations: evaluation using clethodim. Plant Physiol. 145, 547-558.
- Zhang, P., Dreisigacker, S., Melchinger, A.E., Rife, J.C., Mujeebkazi, A., Yan-Ginkel, M., Hoisington, D. and Warburton, M.L. 2005. Quantifying hovel sequence. Variation and selective and their backcross -derived lines using SSR markers. Mol Breed. 15: 1-10.
- Zong-Yun, F., Xian-Jun, L., Yi-Zhang, Z. and Hong-Qing, L. 2006. Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using SSR marker. Acta Genet. Sin. 33: 917-923.
- Zohary, D. and Hopf, M. 2003. Domestication of plants in the old world: The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley. Plant Syst. Evol. 236: 227-228.

Analysis of Genetic Diversity in Wild barley (*Hordeum spontaneum*) Populations by Using SSR Marker

Sirwan Babaei¹, Hassan Alizadeh², Mohammad Ali Baghestani³, Mohammad Reza Naqhvavi², Soheila Mohammadi⁴

1- Assistant professor agronomy and plant breeding department, University of Kurdistan 2- Professor at agronomy and Plant breeding department, University of Tehran 3- Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran 4- PhD student of plant breeding, university of Ilam

Abstract

In order to investigate genetic variation of *Hordeum spontaneum* C. Koch populations in Iran, an experiment was conducted at the research section of the Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran from 2013 to 2014. In this study, 40 ecotypes of *H. spontaneum* collected from all parts of Iran were investigated by means of 11 SSR markers. Results revealed that the number of polymorphic bands for each primer varied from 2 to 14, on average, 7 and 5.6 polymorphic bands for all primers. Total variances observed were related to diversity among and within the populations which were 48% and 52% respectively. This means a high differentiation among the populations. The biotypes of wild barely (40) were divided into 5 groups including: A: Fars populations, B: populations of Yazd, Chaharmahal va bakhtiari, Lorestan, Ilam and Hamedan populations, C: Qazvin, Alborz, Khomein, Qom and Khorasan populations, D: Kurdistan, West Azarbaijan, Lorestan, Ardebil and Qazvin populations. E: Hamedan, Kurdistan and Kermanshah populations. The placement of closed area populations in one group may be due to penetrations into each other, through farm machinery or cultivated crop seeds. The hypothesis of seed transport from Fars province to far areas such as Karaj and Varamin is rejected. Knowledge of the genetic diversity of this weed, can lead to development of management plans in order to effectively control this weed especially in wheat fields.

Key words: Genetic diversity, SSR marker, weed dispersal