

## تجزیه ساختار و تنوع ژنتیکی ارقام جو با استفاده از نشانگرهای اس.ان.پی

رضا عطایی<sup>۱\*</sup>، مجید غلامحسینی<sup>۲</sup> و حسین احمدی<sup>۳</sup>

۱ و ۲، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۶/۱۴)

### چکیده

جو یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده غلات است و از نظر اهمیت اقتصادی در مقام چهارم جهان قرار گرفته است. وجود تنوع ژنتیکی پایه برنامه‌های اصلاحی است و برای بهبود گیاهان زراعی ضروری است. نشانگرهای اس.ان.پی به دلیل فراوانی زیاد در ژنوم یکی از بهترین نشانگرها برای بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت است. در این بررسی ۱۰۰ رقم جو پاییزه با استفاده از ۳۹۶۴ نشانگر اس.ان.پی با MAF بیشتر از ۱۰ درصد ارزیابی شد. دامنه شاخص PIC در کل جمعیت از ۰/۱۹ تا ۰/۵ با میانگین ۰/۳۹ بود. میزان این شاخص برای اغلب نشانگرها (۳۳۵۲ نشانگر) بیشتر از ۰/۲۵ بود. میانگین شاخص PIC روی کروموزوم‌های مختلف از ۰/۳۷ (کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵) تا ۰/۴۲ (کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷) متغیر بود. بیشترین میزان شاخص‌های تنوع ژنتیکی (شاخص نی و شاخص اطلاعات شانون) مربوط به کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷ بود. تعیین ساختار جمعیت نشان داد، ژنوتیپ‌ها بر پایه نشانگرهای مورد استفاده در دو زیرگروه قرار می‌گیرند که با مورفولوژی دو ردیفه یا شش ردیفه بودن سنبله هماهنگی داشت. تجزیه واریانس مولکولی و تعیین شاخص Fst در نواحی از ژنوم که باعث تمایز دو زیرجمعیت شده‌اند، نشان داد این مناطق ژنومی با ژن‌های کنترل‌کننده مورفولوژی سنبله هم‌مکان هستند. تنوع ژنتیکی در زیرجمعیت اول (ارقام دوردیفه) کمتر از زیرجمعیت دوم (ارقام شش ردیفه) بود. میانگین عدم تعادل پیوستگی (لینکاژی) با افزایش فاصله ژنتیکی کاهش یافت و درون زیرگروه‌ها بیشتر از عدم تعادل موجود در کل جمعیت بود. عدم تعادل ژنتیکی در ارقام شش ردیفه نسبت به ارقام دو ردیفه روند کاهشی سریع‌تری داشت. نتایج این پژوهش نشان داد، تنوع ژنتیکی زیادی در ارقام جو پاییزه وجود دارد و می‌توان از آن در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** اس.ان.پی، تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت، عدم تعادل پیوستگی، جو.

## Study of Genetic Diversity and Population Structure in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Based on SNP Markers

Reza Ataei<sup>1\*</sup>, Majid Gholamhoseini<sup>2</sup> and Hossein Ahmadi<sup>3</sup>

1 and 2, Assistant Professors, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

3., MSc, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

(Received: May 15, 2017- Accepted: September 5, 2017)

### ABSTRACT

Barley is a major crop and the fourth most important cereal in the world. Genetic diversity is a basic component in breeding programs and is crucial for successful barley improvement. SNPs are a good marker type to study diversity. SNPs represent the most abundant source of genetic variation within the genome and are linked to heritable differences between individuals. In this study we used diverse collection of 100 winter barley (*Hordeum vulgare* L.) to assess genetic diversity and population structure. Population was genotyped using 3964 SNPs with minor allele frequencies (MAFs) more than 10 percent. PIC was ranged from 0.19 to 0.5 in the whole panel and it was more than 0.25 for 3352 markers. The average of PIC was varied from 0.37 (2H and 5H chromosomes) to 0.42 (3H and 7H chromosomes). The maximum value of genetic diversity indices (Nei's index and Shannon information index) were on 3H and 7H chromosomes. Strong population structure effect related to ear row number (two-row and six-row) was present in our barley collection. AMOVA analysis and  $F_{st}$  index showed that differentiated regions of genome are correspondence with ear row number loci. Genetic diversity in the first subpopulation (two-row cultivars) was less than that in the second subpopulation (six-row cultivars). In the whole genome, average linkage disequilibrium (LD) was observed to decay at 4cM and in sub populations was more than whole panel. LD decay was more rapid in six-row cultivars compared to two-row. These results indicated considerable genetic variation in winter barley collection and could be used in barley improvement programs.

**Key words:** Genetic diversity, Population structure, Linkage disequilibrium, SNP, Barley.

\* Corresponding author E-mail: reza\_ataei@ut.ac.ir

### مقدمه

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی اهلی شده است. امروزه جو به دلیل موارد استفاده زیاد آن در تغذیه انسان و دام، تولید مالت و استفاده در صنایع تبدیلی یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده غلات است و از نظر اهمیت اقتصادی پس از گندم، برنج و ذرت در مقام چهارم جهان قرار گرفته است (Ferreira *et al.*, 2016). افزون بر اهمیت اقتصادی، ژنوم جو (در حدود ۵/۱ میلیارد جفت باز) مدل مهمی برای بررسی‌های ژنتیکی به شمار می‌رود، زیرا گیاهی است خودگشن، دیپلوئید با تعداد کروموزوم کم ( $2n=2x=14$ ) و به نسبت بزرگ (۶-۸ میکرومتر) و همچنین دورگ‌گیری نیز در آن آسان است (Sreenivasulu *et al.*, 2008). در سال‌های اخیر کاربرد فناوری‌های پیشرفته توالی‌یابی، اطلاعات ارزشمندی را درباره ژنوم جو در دسترس پژوهشگران قرار داده است (Wicker *et al.*, 2008; Wicker *et al.*, 2009; Bolot *et al.*, 2009). امروزه با استفاده از تلفیق نسل جدید فناوری توالی‌یابی و مرتب‌سازی جریان کروموزومی<sup>۱</sup>، نقشه ژنتیکی کروموزوم شماره ۱ جو با وضوح بالا و با ۱۹۸۷ ژن ترسیم شده است (Mayer *et al.*, 2009). این نقشه ژنتیکی با ژنوم خانواده گندمیان مانند سورگوم و برنج همگونی بسیار بالایی دارد (Bolot *et al.*, 2009). علاوه بر نزدیکی زیاد ژنوم جو و دیگر گیاهان خانواده گندمیان مانند برنج و سورگوم، وجود ۵۰۱۸۳۳ ای.اس.تی<sup>۲</sup> در بانک اطلاعاتی NCBI و در دسترس بودن انواع شکل‌های جهش‌یافته و همچنین چرخه زیستی کوتاه باعث شده‌اند تا جو گیاه مدل مهمی برای بررسی‌های ژنتیکی باشد. وجود تنوع ژنتیکی پایه کارهای اصلاحی است. تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی برای به دست آوردن رقم‌های جدید با عملکرد بالا، سازگاری به تنش‌های محیطی و مقاومت به آفات و عامل‌های بیماری‌زا ضروری است (Laurentin, 2009). متأسفانه یکی از پیامدهای اجتناب‌ناپذیر کشاورزی پیشرفته که مبتنی بر استفاده از رقم (وارسته)های اصلاح‌شده است، کاهش تنوع ذخایر ژنتیکی بوده است. اگرچه برآورد این کاهش تنوع ژنتیکی مشکل و یا غیرممکن می‌نماید اما در اینکه تعداد بسیاری از ژن‌های سودمند از دست رفته‌اند و

ذخایر ژنتیکی با سرعت فزاینده‌ای کاهش یافته‌اند و گیاهان زراعی عمده در معرض تهدید روزافزون شرایط محیطی نامناسب و تنش‌های زیستی و غیر زیستی قرار گرفته‌اند، تردیدی وجود ندارد.

امروزه نشانگرهای مولکولی برای هدف‌های خاص مانند بررسی تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت و یا شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مهم زراعی و مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده به‌طور گسترده‌ای استفاده می‌شوند (Jain *et al.*, 2002; Gupta & Varshney, 2005). یکی از نشانگرهای مولکولی تفاوت‌های تک نوکلئوتیدی (اس.ان.پی)<sup>۳</sup> است که به دلیل در دسترس بودن تعداد زیادی نشانگر اس.ان.پی، میزان پایین اشتباه در نمره‌دهی آلل‌ها و به دلیل قابل مقایسه بودن نتایج آزمایشگاه‌های مختلف امروزه بیشتر از هر نشانگر دیگری مورد توجه قرار گرفته‌اند. با وجود کاستی‌هایی که این نشانگرها نسبت به نشانگرهای ریزماهواره (اس.اس.آر)<sup>۴</sup> دارند، نتایج بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد، استفاده از تعداد زیادی اس.ان.پی می‌تواند کاستی‌های آن را نسبت به نشانگر اس.اس.آر برطرف کند (Paschou *et al.*, 2007). به‌رغم اینکه اس.اس.آر‌ها تنوع آلی زیادی از خود نشان می‌دهند و اطلاعات به‌دست‌آمده از آن‌ها در جمعیت نسبت به اس.ان.پی‌ها (در صورت کاربرد تعداد برابر از هر دو نشانگر) بیشتر است اما فراوانی زیاد اس.ان.پی‌ها در ژنوم نسبت به اس.اس.آر تا حد زیادی می‌تواند این کاستی‌ها را برطرف کند.

کاربرد اس.ان.پی در جو نشان داد، به ازای هر ۱۸۹ جفت‌باز یک اس.ان.پی وجود دارد (Kanazin *et al.*, 2002) و آلل‌های همسانی در دو گونه *H. vulgare* L. و *H. spontaneum* L. وجود دارد. Edwards *et al.* (2001) اس.ان.پی‌های فراوانی در نواحی حفاظت‌شده اس.اس.آر‌های ذرت شناسایی و نشان دادند، اس.ان.پی‌ها به‌خوبی می‌توانند جایگزین اس.اس.آر‌ها شوند. در تحقیقی ۲۱۳ نشانگر اس.ان.پی را در برنج به‌کار بردند و نشان دادند، این نشانگر به‌خوبی می‌تواند برای بررسی ژنوم و به‌هزادی مولکولی برنج استفاده شود (Nasu *et al.*, 2002). در تحقیق دیگری ساختار و تنوع ژنتیکی تعداد ۱۴۸۵ رقم بومی جو بهاره

3. Single Nucleotide Polymorphism (SNP)  
4. Simple Sequence Repeat (SSR)

1. Flow sorting  
2. Expressed sequence tag (EST)

مؤسسه IPK- Gatersleben در آلمان ارزیابی شد. موقعیت اغلب این نشانگرها روی ۷ گروه پیوستگی جو مشخص بود (Tondelli *et al.*, 2013). نشانگرهایی با داده گمشده بیشتر از ۱۰ درصد و MAF<sup>۵</sup> کمتر از ۱۰ درصد حذف شد (Mandel *et al.*, 2013) و مجموعه جدیدی متشکل از ۳۹۶۴ اس.ان.پی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت استفاده شد. برای تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت از روش‌های متفاوتی استفاده شد. محتوای اطلاعات چندشکلی برای هر نشانگر با استفاده از رابطه زیر:

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

محاسبه شد. در این رابطه  $P_i$  فراوانی آمین آلل و  $n$  تعداد آلل هر نشانگر اس.ان.پی است (Chen *et al.*, 2011). این شاخص می‌تواند بین صفر (برای آلل‌های یک‌شکل در جمعیت) و یک (برای آلل‌هایی که فراوانی آن‌ها در جمعیت برابر است) برای نشانگرهای چندآلی و بین صفر و نیم (برای نشانگرهای دوآلی تغییر کند. شاخص‌های تنوع ژنتیکی (شاخص نی<sup>۶</sup> و شاخص اطلاعات شانون<sup>۷</sup>) با استفاده از نرم‌افزار Popgene 1.32 محاسبه شد (Yeh *et al.*, 1999). تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های نشانگرها توسط نرم‌افزار PAST (Hammer *et al.*, 2001) انجام شد و دندروگرام مربوطه بر پایه الگوریتم UPGMA و با استفاده از شاخص تشابه اقلیدسی محاسبه شد. همچنین تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از ماتریس تشابه اقلیدسی انجام گرفت. این تجزیه به صورت گرافیکی زیرجمعیت‌ها را تا حدی آشکار کرد. برای درک بهتر تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت و برآورد میزان تمایز نواحی ژنومی تجزیه واریانس مولکولی با نرم‌افزار Arlequin3.5 (Excoffier & Lischer, 2010) صورت پذیرفت. واریانس مولکولی بر پایه شاخص تثبیت ( $F_{st}$ ) محاسبه شد. وجود زیرجمعیت‌ها با روش بیس و نرم‌افزار Structure 2.3 با سه تکرار و ۳۰۰۰۰ جایگشت بررسی شد (Pritchard *et al.*, 2000). تعداد خوشه‌هایی (K) که ساختار جمعیت را بهتر نشان می‌دادند، با نرم‌افزار Structure Harvester تعیین شد (Evanno *et al.*, 2005).

(گردآوری شده از ۴۱ کشور جهان) را با استفاده از ۴۲ نشانگر اس.ان.پی آر ارزیابی و گزارش کردند، ده زیرجمعیت موجود در جمعیت با منشأ جغرافیایی، مورفولوژی سنبله (دو ردیفه یا شش ردیفه) و تیپ دانه هماهنگی دارد (Pasam *et al.*, 2014). بررسی تنوع ژنتیکی ذخایر توارثی (ژرم پلاسما) جو برزیل با استفاده از نشانگرهای اس.ان.پی آر نشان داد، تعداد آلل‌های موجود در ذخایر توارثی سال ۱۹۸۰ بسیار بیشتر بوده است و اغلب رقم‌های آزادشده پس از سال ۱۹۸۰ ظرفیت اطلاعات چندشکلی<sup>۱</sup> پایینی نسبت به رقم‌های قدیمی‌تر نشان می‌دهند (Ferreira *et al.*, 2016). در این پژوهش به منظور تجزیه تنوع ژنتیکی جمعیت محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرها، شاخص‌های تنوع (شاخص شانون و نی) و شاخص تثبیت<sup>۲</sup> در جمعیت متشکل از ۱۰۰ رقم جو پاییزه با ۳۹۶۴ نشانگر اس.ان.پی بررسی شد. همچنین ساختار این جمعیت با استفاده از روش‌های مختلف آماری (تجزیه خوشه‌ای یا کلاستر، تجزیه به مختصات اصلی و روش بیس<sup>۳</sup>)، عدم تعادل پیوستگی (لینکاژی) و الگوی کاهش عدم تعادل پیوستگی در جمعیت و زیر جمعیت‌های موجود آزمایش شد.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش ۱۰۰ رقم جو پاییزه استفاده شد. این مجموعه شامل ۵۰ رقم جو دوردیفه و ۵۰ رقم جو شش ردیفه از کشورهای فرانسه (۳۴ ژنوتیپ)، آلمان (۲۶ ژنوتیپ)، انگلستان (۱۶ ژنوتیپ)، ایتالیا (۱۷ ژنوتیپ)، دانمارک (۲ ژنوتیپ)، بلژیک (۱ ژنوتیپ) و اتریش (۱ ژنوتیپ) بود و اطلاعات مربوط به سه ژنوتیپ در دسترس نبود. قدیمی‌ترین رقم موجود در این مجموعه در سال ۱۹۳۷ و جدیدترین آن در سال ۲۰۰۶ آزادسازی شده است (جدول ۱). آزمایش در مرکز تحقیقات ژنومیکس ایتالیا<sup>۴</sup> و با همکاری دانشگاه میلان انجام گرفت. استخراج دی.ان.ای با استفاده از کیت Tepnel Nucleoplex Plant DNA صورت پذیرفت. هر رقم با مجموعه‌ای از ۷۸۶۴ اس.ان.پی به وسیله Single Illumine<sup>TM</sup> Iselect Assay با همکاری

5. Minor Allele Frequency  
6. Nei's index  
7. Shannon's information index

1. polymorphism information content (PIC)  
2. Fixation Index  
3. Bayesian Method  
4. Genomics Research Centre

کروموزوم (جو). برای تعیین الگوی کاهش عدم تعادل پیوستگی مقادیر  $r^2$  و فاصله ژنتیکی (سانتی‌مورگان) روی یکدیگر پلات شد و رگرسیون LOWESS<sup>۱</sup> (Jacoby, 2000) برازش داده شد.

عدم تعادل پیوستگی مربوط به هر جفت نشانگر و آماره  $r^2$  با استفاده از نرم‌افزار Haploview 4.2 (Barrett et al., 2005) محاسبه شد. برای تعیین عدم تعادل پیوستگی تنها از نشانگرهایی استفاده شد که مکان کروموزومی آنها مشخص بودند (۳۵۱۴ نشانگر اس.ان.پی روی هفت

جدول ۱. نام و برخی ویژگی‌های ارقام مورد استفاده در این پژوهش.

Table 1- Name and some characteristics of studied cultivars.

Row	Cultivar	Year of release	Origin	Row	Cultivar	Year of release	Origin	Row	Cultivar	Year of release	Origin
۱	Aci	۱۹۹۴	Italy	۷۱	Hatif de Grignon	۱۹۳۷	Farance	۲۶	Nure	۱۹۹۸	Italy
۲	Aiace	۲۰۰۲	Italy	۷۲	Herfordia	۱۹۵۰	Germany	۳۷	Panda	۱۹۸۳	Farance
۳	Airone	۱۹۹۹	Italy	۷۳	Hoppel	۱۹۷۰	Farance	۳۸	Pearl	۱۹۹۷	England
۴	Alce	۲۰۰۴	Italy	۷۴	Isa	۱۹۸۵	Belgium	۳۹	Platine	۱۹۹۶	Farance
۵	Alfeo	۱۹۹۳	Italy	۷۵	Jaidor	۱۹۸۱	Farance	۴۰	Puffin	۱۹۸۹	England
۶	Alpha	۱۹۷۲	Germany	۷۶	Ketos	۲۰۰۲	Farance	۴۱	Red	۱۹۹۰	Italy
۷	Amillis	۱۹۹۵	Farance	۷۷	Laverda	۲۰۰۴	Germany	۴۲	Sonja	۱۹۷۴	Germany
۸	Aquarelle	۲۰۰۳	Germany	۷۸	Letizia	۱۹۹۸	Germany	۴۳	Sprite	۱۹۹۲	England
۹	Arda	۱۹۸۵	Italy	۷۹	Lonni	۲۰۰۵	Denmark	۴۴	Target	۱۹۹۲	England
۱۰	Asso	۱۹۹۳	Italy	۸۰	Lorena	۱۹۹۳	Germany	۴۵	Tiffany	۱۹۹۶	Germany
۱۱	Baraka	۱۹۸۶	Farance	۸۱	Ludmilla	۱۹۹۹	Germany	۴۶	Trasimeno	--	--
۱۲	Carat	۲۰۰۲	England	۸۲	Manitou	۱۹۸۸	Farance	۴۷	Ultra	۱۹۹۶	Germany
۱۳	Clara	۲۰۰۱	Germany	۸۳	Mattina	۱۹۹۸	Farance	۴۸	Verticale	۲۰۰۰	Farance
۱۴	Clarine	۱۹۸۸	Farance	۸۴	Mirco	۱۹۸۱	Italy	۴۹	Vertige	۱۹۹۵	Farance
۱۵	Dolmen	۲۰۰۱	Farance	۸۵	Naomie	۲۰۰۳	Germany	۵۰	Zacinto	۲۰۰۰	Italy
۱۶	Duchesse	۱۹۹۶	Farance	۸۶	Nikel	۱۹۹۶	Germany	۵۱	Abondant	--	--
۱۷	Duet	۱۹۹۵	England	۸۷	Passport	۱۹۹۷	Farance	۵۲	Ager	۱۹۶۳	Farance
۱۸	Fighter	۱۹۹۱	England	۸۸	Patricia	۱۹۹۵	Austria	۵۳	Aldebaran	۲۰۰۳	Italy
۱۹	Finesse	۱۹۸۸	England	۸۹	Perga	۱۹۶۰	Germany	۵۴	Athene	۱۹۷۷	Germany
۲۰	Fjord	--	--	۹۰	Pirate	۱۹۷۸	Farance	۵۵	Balaki	۱۹۹۶	Farance
۲۱	Gleam	۱۹۹۶	England	۹۱	Plaisant	۱۹۷۹	Farance	۵۶	Balda	۱۹۹۸	Italy
۲۲	Halcyon	۱۹۶۸	England	۹۲	Ponente	۲۰۰۱	Italy	۵۷	Canoro	۱۹۹۲	Italy
۲۳	Heligan	۱۹۹۸	England	۹۳	Rebhel	۱۹۸۸	Italy	۵۸	Crimont	۱۹۷۵	Farance
۲۴	Jewel	۱۹۹۷	England	۹۴	Robur	۱۹۷۳	Farance	۵۹	Dea	۱۹۵۳	Germany
۲۵	Kaskade	۱۹۸۱	Germany	۹۵	Sereno	۱۹۹۵	England	۶۰	Djebhel	۱۹۹۷	Farance
۲۶	Kelibia	۱۹۹۰	Farance	۹۶	Sonora	۱۹۹۲	Farance	۶۱	Dura	۱۹۶۱	Germany
۲۷	Kestrel	۲۰۰۳	England	۹۷	Tamaris	۱۹۹۲	England	۶۲	Esterel	۱۹۹۶	Farance
۲۸	Labea	۱۹۹۲	Germany	۹۸	Trebbia	۱۹۹۰	Italy	۶۳	Express	۱۹۹۰	Farance
۲۹	Leonie	۲۰۰۰	Germany	۹۹	Vetulio	۱۹۸۳	England	۶۴	Federal	۱۹۹۴	Farance
۳۰	Magie	۱۹۸۳	Farance	۱۰۰	Vogelsanger Gold	۱۹۶۵	Germany	۶۵	Franka	۱۹۸۰	Germany
۳۱	Malta	۱۹۶۸	Germany					۶۶	Fridericus	۲۰۰۶	Germany
۳۲	Malwinta	۲۰۰۴	Denmark					۶۷	Gaiano	۱۹۹۸	Farance
۳۳	Manolia	۲۰۰۱	Farance					۶۸	Gerbel	۱۹۷۷	Farance
۳۴	Melanie	۱۹۹۳	Germany					۶۹	Glenan	۱۹۸۸	Farance
۳۵	Murcie	۲۰۰۲	Farance					۷۰	Grete	۱۹۸۹	Germany

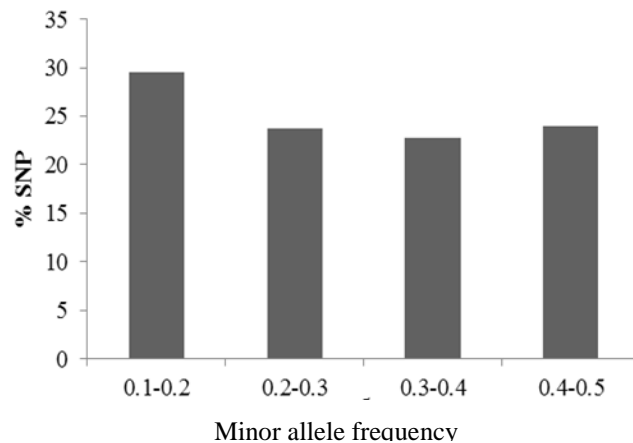
\*: ۵۰ رقم اول دوردیفه و ۵۰ رقم بعدی شش ردیفه است.

### نتایج و بحث

درصد) بدون مکان کروموزومی مشخص بودند. این نشانگرها روی هر هفت کروموزوم جو با میانگین فاصله ۰/۲۸ سانتی‌مورگان توزیع شده بود. توزیع نشانگرها روی کروموزوم‌ها به صورت یکنواخت نبود و بیشترین تعداد نشانگر مربوط به کروموزوم شماره ۶ و کمترین آن مربوط به کروموزوم شماره ۱ بود.

از مجموع ۳۹۶۴ نشانگر مورد استفاده برای ارزیابی ژنوتیپی، ۲۹/۵ درصد از نشانگرها فراوانی آلل مینور بین ۰/۱-۰/۲، ۲۳/۷ درصد بین ۰/۲-۰/۳، ۲۲/۷ درصد بین ۰/۳-۰/۴ و نزدیک به ۲۴ درصد ۰/۴-۰/۵ را داشتند (شکل-۱). از این تعداد نشانگر، مکان ژنومی ۳۵۱۴ نشانگر روی هفت کروموزوم جو مشخص بود و ۴۵۰ نشانگر (۱۱

1. Locally weighted scatterplot smoothing



شکل ۱. توزیع فراوانی آلل مینور نشانگرهای مورد استفاده در آزمایش (۳۹۶۴ نشانگر).  
Fig 1- Minor allele frequency distribution of studied markers (3964 markers).

۵۰ درصد کل تنوع جمعیت را توجیه می‌کنند. بای پلات مؤلفه اول روی مؤلفه دوم این جمعیت را به دو گروه تقسیم کرد. مؤلفه اول ۱۳/۸ درصد و مؤلفه دوم ۸/۹۷ درصد کل تنوع موجود را توجیه می‌کردند. بررسی‌های بعدی نشان داد، زیرگروه‌های موجود در جمعیت با مورفولوژی سنبله (دوردیفه یا شش ردیفه بودن) هماهنگی دارند. گروه اول شامل ۵۰ رقم دوردیفه و گروه دوم شامل ۵۰ رقم شش ردیفه بود (شکل ۲). تجزیه فیلوژنیک و ترسیم دندروگرام (با ضریب کوفنتیک ۰/۸۹) بر پایه نشانگرهای مورد استفاده، یکبار دیگر جمعیت را به دو گروه کامل جداگانه تقسیم کرد. (شکل ۳).

از دندروگرام مربوطه مشاهده می‌شود دو کلاستر هماهنگی خوبی با مورفولوژی سنبله دارد. این نتایج هماهنگی خوبی با نتایج به دست آمده از تجزیه به مختصات اصلی داشت. تجزیه ساختار جمعیت با استفاده از نرم-افزارهای Structure Harvester و Structure نشان داد، شاخص  $\Delta K$  بیشترین میزان را در  $K=2$  دارد که نشان‌دهنده وجود دو زیرجمعیت است. در میزان  $K=2$  جمعیت به دو زیرگروه ژنوتیپ‌های دوردیفه و شش ردیفه تقسیم می‌شود (شکل ۴).

تجزیه واریانس مولکولی با فرض وجود دو زیرجمعیت (رقم‌های دوردیفه، رقم‌های شش ردیفه) نشان داد، ۲۰ درصد از تنوع مولکولی کل توسط تنوع موجود در بین زیرجمعیت‌ها توجیه می‌شود و ۸۰ درصد از آن تنوع مربوط به درون زیرجمعیت‌ها است. نتایج تجزیه واریانس مولکولی

دامنه شاخص PIC در کل جمعیت از ۰/۱۹ تا ۰/۵ با میانگین ۰/۳۹ بود. با توجه به دو آللی بودن نشانگر اس.ان.پی و ماهیت هاپلوتایپی داده‌های اس.ان.پی، این شاخص بین صفر و نیم متغیر است و میانگین ۰/۳۹ نشان‌دهنده سودمندی نشانگرهای بکار رفته در این پژوهش است. میزان این شاخص برای اغلب نشانگرها (۳۳۵۲ نشانگر) بیشتر از ۰/۲۵ بود. میانگین شاخص PIC روی کروموزوم‌های مختلف از ۰/۳۷ (کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵) تا ۰/۴۲ (کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷) متغیر بود. مشابه با شاخص PIC، شاخص‌های تنوع نی و شانون بیشترین میزان را روی کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷ داشتند و کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵ کمترین تنوع را از لحاظ شاخص‌های بالا نشان دادند (جدول ۲). برخی از گزارش‌ها گویای آن است که ساختار جمعیت رقم‌های جو با مورفولوژی سنبله (دوردیفه یا شش ردیفه بودن) ارتباط دارد (Zhang et al., 2009). لذا محاسبه شاخص‌های PIC، نی و شانون درون گروه‌های متشکل از ژنوتیپ‌های دوردیفه و شش ردیفه نشان داد، میانگین آماره‌های بالا در رقم‌های دوردیفه (به ترتیب ۰/۳۰، ۰/۳۱ و ۰/۴۸) کمتر از رقم‌های شش ردیفه (به ترتیب ۰/۳۷، ۰/۳۷ و ۰/۵۵) است که نشان می‌دهد، تنوع ژنتیکی جوهای شش ردیفه بیشتر از جوهای دوردیفه است.

به منظور تجزیه ساختار جمعیت چندین روش برای تعیین زیرگروه‌ها در جمعیت استفاده شد. تجزیه به مختصات اصلی با نرم‌افزار PAST نشان داد، ده مؤلفه اول

(Ramsay *et al.*, 2011). روی کروموزوم شماره ۵ مناطق تمایز یافته‌ای مشاهده نشد، که نشان می‌دهد، جمعیت مورد بررسی بدون شکل آللی  $vrs_2$  است. کروموزوم‌های شماره ۶ و ۷ میزان  $F_{st}$  را در حد بالایی نشان دادند، ممکن است حاوی شکل‌های آللی جدید برای ژن  $vrs$  باشند (شکل ۵).

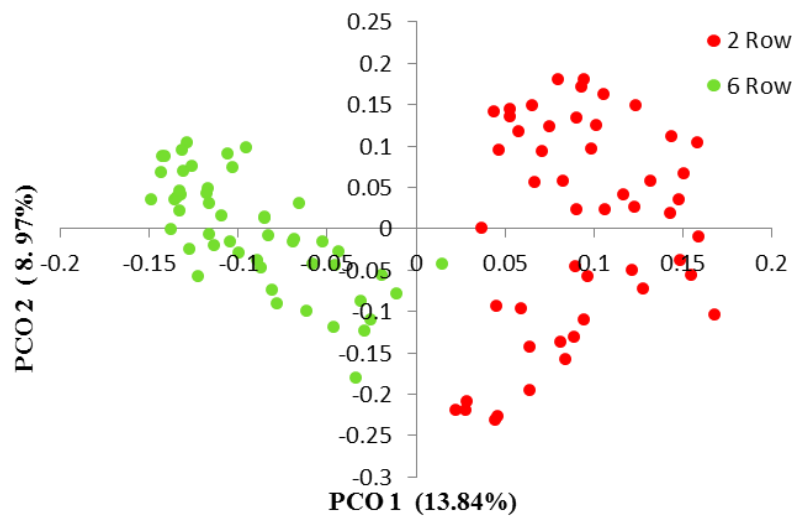
و محاسبه شاخص  $F_{st}$  برای نواحی از ژنوم که باعث تمایز دو زیرجمعیت شده‌اند، نشان داد این مناطق ژنومی روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب با ژن‌های  $vrs_3$ ،  $vrs_1$ ،  $vrs_4$  و  $int-c$  هم‌مکان بودند که این ژن‌ها مسئول دوردیفه یا شش ردیفه بودن در جمعیت‌های جو هستند

جدول ۲. توزیع نشانگرها و شاخص PIC روی کروموزوم‌های مختلف جو.

Table 2- Distribution of markers and PIC index on the different barley chromosomes.

chromosome	SNP Number	PIC	$h^*$	$I^{**}$
1H	۳۹۳	۰/۴۱	۰/۴۱±۰/۰۹	۰/۵۹±۰/۱۰
2H	۴۲۶	۰/۳۷	۰/۳۶±۰/۱۰	۰/۵۴±۰/۱۱
3H	۵۵۷	۰/۴۲	۰/۴۰±۰/۰۸	۰/۶۰±۰/۰۹
4H	۴۵۸	۰/۳۸	۰/۳۸±۰/۰۹	۰/۵۶±۰/۱۱
5H	۴۷۰	۰/۳۷	۰/۳۶±۰/۱۱	۰/۵۴±۰/۱۲
6H	۶۴۳	۰/۳۸	۰/۳۸±۰/۰۹	۰/۵۷±۰/۱۱
7H	۵۶۷	۰/۴۲	۰/۴۲±۰/۰۸	۰/۶۱±۰/۰۹
Unmapped	۴۵۰	۰/۳۴	۰/۳۳±۰/۱۰	۰/۵۱±۰/۱۱
Under the first population (two-row digits)	۳۹۶۴	۰/۳۰	۰/۳۱±۰/۰۷	۰/۴۸±۰/۰۸
Sub-population two (six-row digits)	۳۹۶۴	۰/۳۷	۰/۳۷±۰/۰۷	۰/۵۵±۰/۰۷

\* و \*\* به ترتیب نشان‌دهنده شاخص نی و شانون است.



شکل ۲. تجزیه به مختصات اصلی بر پایه ۳۹۶۴ نشانگر و تقسیم جمعیت به دو زیرگروه متشکل از رقم‌های دوردیفه (رنگ قرمز) و شش ردیفه (رنگ سبز).

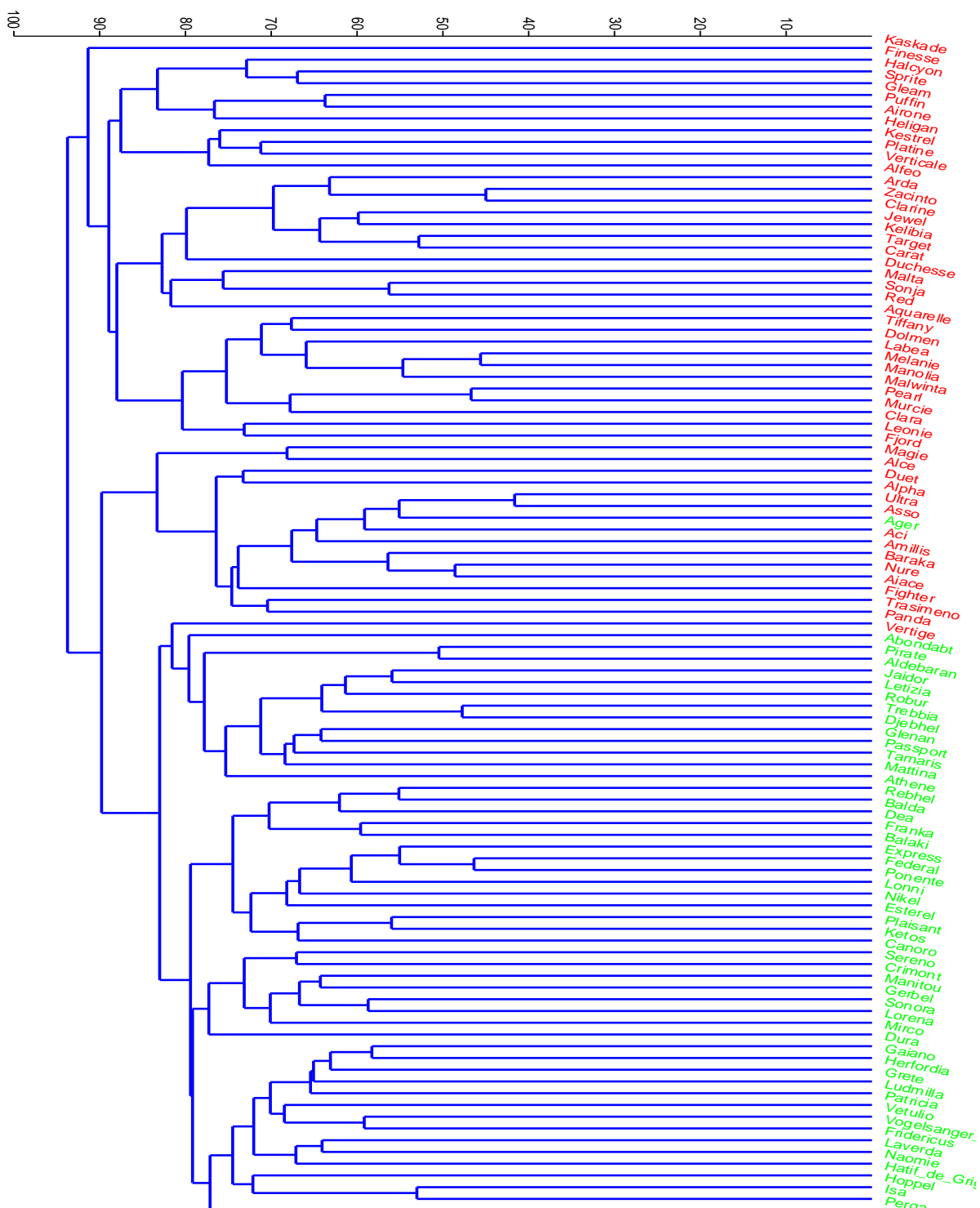
Fig 2- PCO analysis based on 3964 markers and two sub-populations include 2 row (red) and 6 row (green) cultivars.

عدم تعادل پیوستگی مربوط به کروموزوم شماره ۷ (۰/۵۰۷) و کمترین میزان به کروموزوم شماره ۲ (۰/۲۳۷) اختصاص داشت. در فاصله ۱۰-۵ سانتی مورگان بیشترین میزان مربوط به کروموزوم شماره ۳ (۰/۱۸۲) و کمترین میزان مربوط به کروموزوم شماره ۲ (۰/۰۹۶) بود. در بین نشانگرهای مستقل از هم با فاصله بیش از ۵۰ سانتی مورگان،

میانگین شاخص عدم تعادل پیوستگی ( $r^2$ ) برای هر کروموزوم در فاصله‌های ژنتیکی مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. جفت نشانگرهایی که در فاصله کمتر از ۵ سانتی مورگان قرار دارند و پیوستگی زیادی با یکدیگر دارند، بیشترین عدم تعادل را روی هر هفت کروموزوم با میانگین ۰/۳۲۲ از خود نشان دادند. در این فاصله ژنتیکی بیشترین

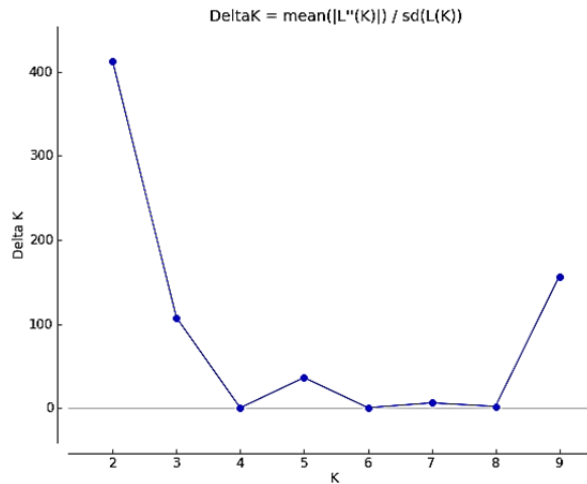
داشت (جدول ۳).

کمترین و بیشترین عدم تعادل پیوستگی به کروموزوم‌های شماره ۵ و ۴ به ترتیب با مقادیر ۰/۰۲۴ و ۰/۰۴۷ اختصاص



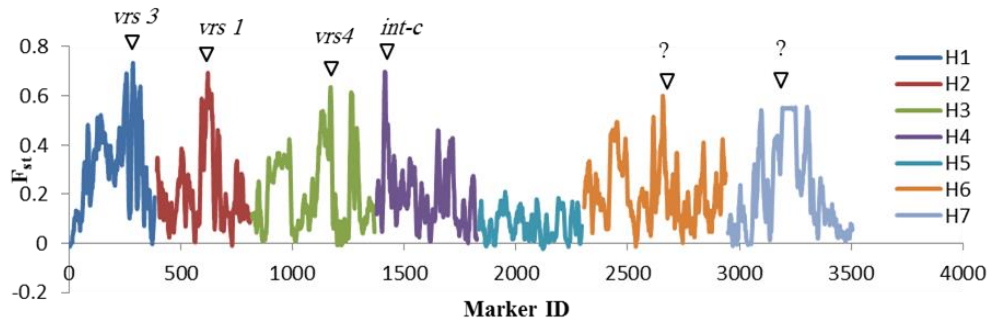
شکل ۳. دندروگرام مربوط به ۱۰۰ ژنوتیپ بر پایه ۳۹۶۴ اس.ان.پی. جمعیت به دو گروه کامل مجزا تقسیم شده است. ژنوتیپ‌های قرمز رنگ دوردیفه و ژنوتیپ‌های سبزرنگ شش ردیفه هستند.

Fig 3. Dendrogram of 100 genotypes based on 3964 SNP. 2 row (red) and 6 row (green) sub populations



شکل ۴. تعیین زیرجمعیت‌ها با استفاده از Structure Harvester و روش Evanno *et al.* (2005). محور عمودی میزان آماره  $\Delta K$  و محور افقی تعداد زیر جمعیت‌ها را نشان می‌دهد.

Fig 4. Detection of subpopulations by structure harvester and Evanno *et al.* (2005) method. vertical axis displays  $\Delta K$  and horizontal axis shows subpopulation number.



شکل ۵. تجزیه واریانس مولکولی و شاخص Fst. نواحی متناظر با ژن‌های مسئول دوردیغه و شش ردیفه بودن جو نشان داده شده است. AMOVA analysis and Fst index. genomic regions correspondence with ear row number loci in Fig 5 barley are shown.

جدول ۳. میانگین شاخص عدم تعادل پیوستگی در فاصله‌های ژنتیکی مختلف روی هفت کروموزوم جو.

Table 3. Linkage disequilibrium (LD) in different genetic distance on the barley chromosomes.

chromosome	Map length (CM <sup>*</sup> )	The mean of the lack of continuity equation (r <sup>2</sup> ) between the pairs of markers				
		D <sup>**</sup> <5 CM	D = 5- 10 CM	D = 10- 20 CM	D= 20- 50 CM	D> 50 CM
1H	۱۳۳/۱۴	۰/۳۵۴	۰/۱۵۴	۰/۱۰۶	۰/۰۶۳	۰/۰۳۶
2H	۱۴۹/۵	۰/۲۳۷	۰/۰۹۶	۰/۰۵۳	۰/۰۳۸	۰/۰۳۳
3H	۱۵۵/۰۹	۰/۳۷۴	۰/۱۸۲	۰/۰۸۹	۰/۰۴۱	۰/۰۳۲
4H	۱۱۵/۲۳	۰/۲۵۹	۰/۱۰۰	۰/۰۷۴	۰/۰۵۲	۰/۰۴۷
5H	۱۶۹/۶۶	۰/۳۷۴	۰/۱۱۷	۰/۰۶۰	۰/۰۳۲	۰/۰۲۴
6H	۱۲۶/۶۳	۰/۲۴۹	۰/۱۱۶	۰/۰۶۳	۰/۰۳۸	۰/۰۴۵
7H	۱۴۰/۹	۰/۵۰۷	۰/۱۲۵	۰/۰۷۳	۰/۰۴۰	۰/۰۲۸

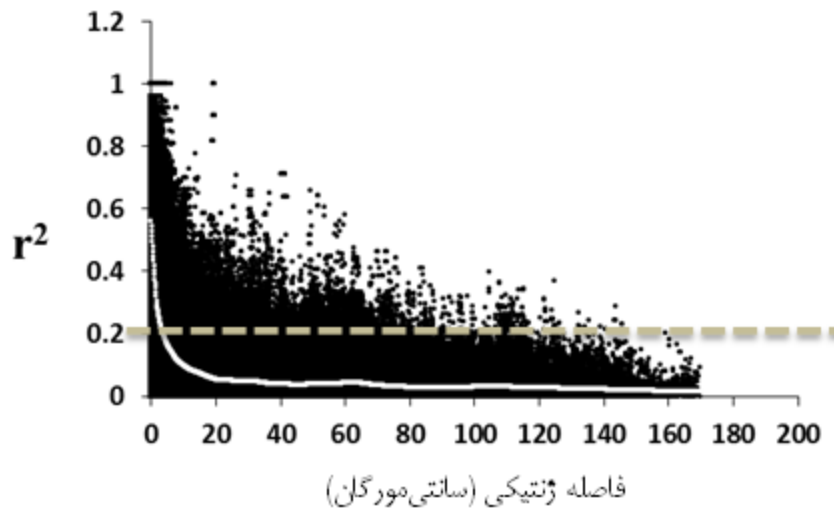
احتمال ۹۰ درصد) میزان ۰/۲ در نظر گرفته شد و فرض بر این است که مقادیر بیشتر از حد بحرانی با پیوستگی ژنتیکی ایجاد می‌شوند. نقطه برخورد منحنی رگرسیون

بای پلات فاصله ژنتیکی (سانتی‌مورگان) و شاخص عدم تعادل نشان داد، با افزایش فاصله ژنتیکی، عدم تعادل گامتی کاهش می‌یابد. میزان بحرانی شاخص عدم تعادل (با



پیوستگی درون زیرجمعیت‌ها نشان داد، میانگین عدم تعادل پیوستگی برای رقم‌های دوردیفه و شش ردیفه به ترتیب ۰/۱۰ و ۰/۰۹ بود که بیشتر از میانگین کل جمعیت (۰/۰۸) است. درصد  $r^2$  معنی‌دار در رقم‌های دوردیفه (۰/۲۱) بیشتر از رقم‌های شش ردیفه (۰/۱۵) بود. همچنین عدم تعادل پیوستگی در رقم‌های دوردیفه با سرعت کمتری نسبت به رقم‌های شش ردیفه و کل جمعیت کاهش می‌یابد. در کل جمعیت کاهش عدم تعادل پیوستگی در فاصله ۴ سانتی‌مورگانی رخ داد، درحالی‌که در رقم‌های دو ردیفه این کاهش در فاصله نزدیک به ۸ سانتی‌مورگانی و در رقم‌های شش ردیفه در فاصله ۶ سانتی‌مورگانی رخ داد.

LOWESS با میزان بحرانی عدم تعادل به‌عنوان نقطه کاهش میانگین عدم تعادل در جمعیت تعریف می‌شود که برابر با ۴ سانتی‌مورگان است (شکل ۶). همبستگی بین  $r^2$  و فاصله ژنتیکی بین نشانگرهایی با فاصله کمتر از ۴ سانتی‌مورگان، معنی‌دار بود (-۰/۳۹) و ۵۴ درصد این نشانگرها بالاتر از حد بحرانی  $r^2$  (۰/۲) قرار داشتند. عدم تعادل پیوستگی در طول کروموزوم نیز متغیر بود. در نواحی سانترومری که احتمال رخداد نوترکیبی کم است عدم تعادل پیوستگی افزایش می‌یابد، برعکس در نواحی تلومری رخداد نوترکیبی‌های پی‌درپی باعث کاهش میزان عدم تعادل در این نواحی شده است. بررسی عدم تعادل



شکل ۶. الگوی کاهش عدم تعادل جفت نشانگرها با افزایش فاصله ژنتیکی (سانتی‌مورگان). خط افقی (بریده‌شده) نشان‌دهنده میزان بحرانی عدم تعادل پیوستگی است و رگرسیون LOWESS (منحنی سفیدرنگ) نشان‌دهنده چگونگی کاهش عدم تعادل نشانگرها است.

Fig 6. LD ( $r^2$ ) decay of marker pairs over all chromosomes as a function of genetic distance (CM). The horizontal line indicates the 90th percentile distribution of unlinked  $r^2$ . The LOWESS fitting curve (white line) illustrates the LD decay.

یکی از مراحل اساسی در نقشه‌یابی ارتباطی است (Flint-Garcia *et al.*, 2005). نتایج بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد، تیپ رشدی (زمستانه یا بهاره بودن)، مورفولوژی سنبله (دوردیفه و شش ردیفه بودن) و منشأ جغرافیایی مهم‌ترین عوامل ایجاد ساختار در جمعیت‌های جو هستند (Malysheva-Otto *et al.*, 2010; Hamblin *et al.*, 2006; Rostoks *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2009). به دلیل اینکه این پژوهش محدود به رقم‌های زمستانه بود و همچنین جمعیت مورد استفاده متشکل از رقم‌های اروپایی بود، لذا مورفولوژی سنبله مهم‌ترین عامل ایجاد ساختار در جمعیت بود. ساختار موجود در خزانه ژنی

جمعیت مورد استفاده در این پژوهش متشکل از رقم‌های دوردیفه و شش ردیفه بود که از کشورهای اروپایی گردآوری شده بود، لذا تنوع موجود تا حدودی مشابه تنوع جمعیت مورد بررسی (Kraakman *et al.*, 2004) (Zhang *et al.*, 2009) بود که به ترتیب محدود به نمونه‌های اروپا و کانادا بود. بررسی‌های مربوط به تنوع ژنتیکی جو نشان می‌دهد، جوهای زمستانه و بهاره دو خزانه ژنی متفاوت دارند، لذا به‌منظور ایجاد تعادل بین افزایش تنوع ژنتیکی و کاهش ساختار جمعیت، در این پژوهش جمعیت مورد بررسی محدود به جوهای زمستانه و رقم‌های اروپایی بود. شناسایی زیرجمعیت‌های موجود درون یک جمعیت

وزن هزاردانۀ آن‌ها ۲۵ تا ۳۰ درصد کمتر از جوهای - دوردیفه است (Nour-Mohammadi *et al.*, 2004). البته ممکن است این نواحی حاوی شکل‌های آلیلی جدید برای ژن *vrs* باشد که تاکنون شناخته نشده‌اند و نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

در این تحقیق جنبه‌های متفاوتی از عدم تعادل پیوستگی بررسی و نشان داده شد، عدم تعادل پیوستگی در طول کروموزوم و از کروموزومی به کروموزوم دیگر متغیر است. بررسی عدم تعادل پیوستگی در جو با استفاده از جمعیت‌های مختلف و نشانگرهای متفاوت مانند ای.اف.ال.پی، اس.اس.آر و دارت گزارش شده است. با این وجود تنها تعداد کمی از بررسی‌های عدم تعادل وجود دارد که با بیش از ۱۰۰۰ نشانگر انجام شده است (Kraakman *et al.*, 2009; Malysheva-Otto *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2004). در این پژوهش عدم تعادل پیوستگی کل جمعیت در فاصله ۴ سانتی‌مورگانی کاهش یافت. بررسی‌های پیشین سطوح مختلفی برای کاهش عدم تعادل پیوستگی در جمعیت‌های مختلف (Caldwell *et al.*, 2006; Ramsay *et al.*, 2011; Stracke *et al.*, 2007) و کروموزوم‌های متفاوت (Rostoks *et al.*, 2006) گزارش کرده‌اند.

Comadaran *et al.* (2009) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، کاهش عدم تعادل پیوستگی در فاصله ۳/۲ سانتی‌مورگانی رخ می‌دهد که احتمال دارد به دلیل وجود رقم‌های بومی در جمعیت مورد بررسی بوده باشد. Caldwell *et al.* (2006). نشان دادند، عدم تعادل پیوستگی در رقم‌های بومی نسبت به رقم‌های الیت با سرعت بیشتری کاهش می‌یابد این پژوهش نشان داد، میانگین عدم تعادل پیوستگی در فاصله بیش از ۵ سانتی‌مورگان ناچیز است، به طوری که شاخص  $r^2$  مربوط به ۷۴ درصد از جفت-نشانگرهای با پیوستگی زیاد (با فاصله کمتر از ۵ سانتی‌مورگان) معنی‌دار بود. با این وجود ۱۵ درصد از جفت‌نشانگرهای مستقل (با فاصله بیش از ۵۰ سانتی‌مورگان) عدم تعادل پیوستگی معنی‌دار از خود نشان دادند. این امر بیانگر تغییرپذیری دینامیک عدم تعادل در طول کروموزوم‌هاست (Pasam *et al.*, 2012) و نشان می‌دهد، افزون بر پیوستگی عامل‌های دیگری نیز بر میزان عدم تعادل در طول کروموزوم تأثیر می‌گذارند. میانگین

جوهای زمستانه نسبت به جوهای بهاره بیشتر تحت تأثیر مورفولوژی سنبله است (Malysheva-Otto *et al.*, 2006). میزان شاخص‌های تنوع (PIC، نی و شانون) در بین کروموزوم‌های مختلف و همچنین در زیرجمعیت‌های مختلف متغیر بود. در بین کروموزوم‌های مختلف، کمترین میزان مربوط به کروموزوم‌های شماره ۲ و ۵ و بیشترین میزان مربوط به کروموزوم‌های شماره ۳ و ۷ بود. این نتایج با نتایج Rostoks *et al.* (2006) که کروموزوم شماره ۶ را متنوع‌ترین کروموزوم گزارش کرده‌اند، مطابقت نداشت. میانگین شاخص‌های تنوع در رقم‌های دوردیفه کمتر از رقم‌های شش ردیفه بود که با نتایج Pasam *et al.* (2012) هماهنگی داشت. در اروپا رقم‌های دو ردیفه برای کاربردهای صنعتی و به‌ویژه تولید مالت کشت و کار می‌شود. کیفیت مالت صفتی کمی است و استفاده از تعداد محدود والدین در برنامه‌های بهنژادی که به‌منظور افزایش کیفیت مالت انجام می‌گیرد، باعث کاهش تنوع ژنتیکی رقم‌های دوردیفه و تشکیل زیرجمعیت مجزا شده است (Melchinger *et al.*, 1994).

بر پایه تجزیه واریانس مولکولی شش ناحیه ژنومی (روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۶ و ۷) که انتظار می‌رود باعث تمایز زیرجمعیت‌ها شده باشد، شناسایی شد. جستجو در بانک‌های اطلاعاتی نشان داد، این نواحی ژنومی متناظر با ژن‌هایی است که در مورفولوژی سنبله نقش دارند. این نتایج مطابقت خوبی با نتایج Pasam *et al.* (2012) Shahinnia *et al.* (2009) داشت تجزیه واریانس مولکولی، ۴ ژن از ۵ ژن بالا را آشکار کرد و تنها ژن *vrs2* روی کروموزوم ۵ مشاهده نشد. کروموزوم شماره ۶ در فاصله ۶۳-۶۰ سانتی‌مورگانی و کروموزوم ۷ در فاصله ۷۰ سانتی‌مورگانی بیشترین میزان  $F_{st}$  را از خود نشان دادند.

مراجعه به بانک اطلاعاتی Grain Gene<sup>۱</sup> نشان داد، در این فاصله‌ها دو کیوتی‌ال مربوط به صفات تعداد دانه در سنبله (QKps.BIKy-6H) و وزن دانه (QGwe.HaTR-7H.2) قرار دارد. دو صفتی که در جوهای دوردیفه و شش ردیفه کامل متمایز از یکدیگرند. در جوهای شش ردیفه به واسطه بارور شدن سنبله‌های جانبی تعداد دانه در سنبله نزدیک به سه برابر و همچنین

1. <http://www.graingenes.org>

جمعیت مورد ارزیابی باید تنوع ژنتیکی و فنوتیپی بالایی داشته باشد. در این پژوهش ۳۵۱۴ نشانگر اس.ان.پی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت استفاده شد. نتایج این پژوهش نشان داد، نشانگرهای مورد استفاده پلی مورفیسم خوبی دارند. در این پژوهش روش‌های متفاوتی برای تعیین ساختار به کار گرفته و نشان داده شد، در جمعیت مورد بررسی این پژوهش، مورفولوژی سنبله عامل ایجاد ساختار است به طوری که جمعیت بر پایه دوردیفه و یا شش ردیفه بودن به دو گروه کامل جداگانه تقسیم شدند. جفت‌نشانگرهایی که در فاصله کمتر از ۵ سانتی مورگان قرار دارند و پیوستگی زیادی با یکدیگر دارند، بیشترین عدم تعادل را بر روی هر هفت کروموزوم جو از خود نشان می‌دهند. عدم تعادل پیوستگی از کروموزومی به کروموزوم دیگر متغیر بود، افزون بر این در طول کروموزوم نیز تغییر فراوانی داشت.

عدم تعادل پیوستگی درون زیرگروه‌ها بیشتر از عدم تعادل موجود در کل جمعیت بود. این امر برخلاف این واقعیت است که وجود ساختار در جمعیت باعث افزایش عدم تعادل می‌شود، با این وجود می‌توان این افزایش عدم تعادل درون زیرجمعیت‌ها را به کاهش اندازه جمعیت و در پی آن افزایش خویشاوندی افراد نسبت داد. در این تحقیق عدم تعادل در رقم‌های دوردیفه با سرعت کمتری نسبت به رقم‌های شش ردیفه کاهش یافت. الگوی متفاوت کاهش عدم تعادل در زیرجمعیت‌ها احتمال دارد به دلیل تفاوت در گذشته اصلاحی<sup>۱</sup> رقم‌های دوردیفه و شش ردیفه باشد (Flint-Garcia *et al.*, 2003) به‌ویژه اینکه جمعیت مورد استفاده متشکل از رقم‌های اروپایی بودند و رقم‌های دوردیفه به دلیل کاربرد آن‌ها در صنایع مالت‌سازی بیشتر مورد توجه هستند.

### نتیجه‌گیری کلی

برای دستیابی به نتایج قابل اطمینان در برنامه‌های اصلاحی،

#### 1. Breeding history

#### REFERENCES

- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. & Daly, M. (2005). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21(2), 263-265.
- Bolot, S., Abrouk, M., Masood-Quraishi, U., Stein, N., Messing, J., Feuillet, C. & Salse, J. (2009). The 'inner circle' of the cereal genomes. *Current opinion in plant biology*, 12(2), 119-125.
- Caldwell, K. S., Russell, J., Langridge, P. & Powell, W. (2006). Extreme population-dependent linkage disequilibrium detected in an inbreeding plant species, *Hordeum vulgare*. *Genetics*, 172(1), 557-567.
- Chen, C., Li, S., Wang, S., Liu, H., Deng, Q., Zheng, A., Zhu, J., Wang, L. & Li, P. (2011). Assessment of the Genetic Diversity and Genetic Structure of Rice Core Parent Guichao 2, its Parents and Derivatives. *Plant Science*, 6, 66-76.
- Comadran, J., Thomas, W., Van Eeuwijk, F., Ceccarelli, S., Grandi, S., Stanca, A., Pecchioni, N., Akar, T., Al-Yassin, A. & Benbelkacem, A. (2009). Patterns of genetic diversity and linkage disequilibrium in a highly structured *Hordeum vulgare* association-mapping population for the Mediterranean basin. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(1), 175-187.
- Edwards, K., Mogg, R. & Henry, R. (2001). Plant genotyping by analysis of single nucleotide polymorphisms. In: R. J. Henry (Ed.). *Plant genotyping: the DNA fingerprinting of plants* (pp. 1-13). UK: CABI.
- Evanno, G., Regnaut, S. & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.
- Excoffier, L. & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10(3), 564-567.
- Ferreira, J. R., Pereira, J. F., Turchetto, C., Minella, E., Consoli, L. & Delatorre, C. A. (2016). Assessment of genetic diversity in Brazilian barley using SSR markers. *Genetics and molecular biology*, 39(1), 86-96.
- Flint-Garcia, S. A., Thornsberry, J. M. & IV, B. (2003). Structure of Linkage Disequilibrium in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54(1), 357-374.
- Flint-Garcia, S. A., Thuillet, A. C., Yu, J., Pressoir, G., Romero, S. M., Mitchell, S. E., Doebley, J., Kresovich, S., Goodman, M. M. & Buckler, E. S. (2005). Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection. *The plant journal*, 44(6), 1054-1064.
- Gupta, P. K. & Varshney, R. K. (2005). Cereal genomics: an overview. *Cereal Genomics* (pp. 1-18): Springer.
- Hamblin, M. T., Close, T. J., Bhat, P. R., Chao, S., Kling, J. G., Abraham, K. J., Blake, T., Brooks, W. S., Cooper, B. & Griffey, C. A. (2010). Population structure and linkage disequilibrium in US barley germplasm: implications for association mapping. *Crop Science*, 50(2), 556-566.

14. Hammer, Ø., Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 1-9.
15. Jacoby, W. G. (2000). Loess:: a nonparametric, graphical tool for depicting relationships between variables. *Electoral Studies*, 19(4), 577-613.
16. Jain, S. M., Brar, D. S. & Ahloowalia, B. S. (2002). *Molecular Techniques in Crop Improvement*. Kluwer Academic Pub.
17. Kanazin, V., Talbert, H., See, D., DeCamp, P., Nevo, E. & Blake, T. (2002). Discovery and assay of single-nucleotide polymorphisms in barley (*Hordeum vulgare*). *Plant molecular biology*, 48(5-6), 529-537.
18. Kraakman, A. T., Niks, R. E., Van den Berg, P. M., Stam, P. & Van Eeuwijk, F. A. (2004). Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*, 168(1), 435-446.
19. Laurentin, H. (2009). Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(2), 277-292.
20. Malysheva-Otto, L. V., Ganal, M. W. & Röder, M. S. (2006). Analysis of molecular diversity, population structure and linkage disequilibrium in a worldwide survey of cultivated barley germplasm (*Hordeum vulgare* L.). *BMC genetics*, 7(1), 6.
21. Mandel, J. R., Nambeesan, S., Bowers, J. E., Marek, L. F., Ebert, D., Rieseberg, L. H., Knapp, S. J. & Burke, J. M. (2013). Association Mapping and the Genomic Consequences of Selection in Sunflower. *PLoS genetics*, 9(3), e1003378.
22. Mayer, K. F., Taudien, S., Martis, M., Šimková, H., Suchánková, P., Gundlach, H., Wicker, T., Petzold, A., Felder, M. & Steuernagel, B. (2009). Gene content and virtual gene order of barley chromosome 1H. *Plant Physiology*, 151(2), 496-505.
23. Melchinger, A. E., Graner, A., Singh, M. & Messmer, M. M. (1994). Relationships among European barley germplasm: I. Genetic diversity among winter and spring cultivars revealed by RFLPs. *Crop Science*, 34(5), 1191-1199.
24. Nasu, S., Suzuki, J., Ohta, R., Hasegawa, K., Yui, R., Kitazawa, N., Monna, L. & Minobe, Y. (2002). Search for and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in rice (*Oryza sativa*, *Oryza rufipogon*) and establishment of SNP markers. *DNA research*, 9(5), 163-171.
25. Nour-Mohammadi, G., Siadat, A. & Kashani, A. (2004). *Cereal Crops* (Vol. 1). Iran. Shahid Chamran University.
26. Pasam, R. K., Sharma, R., Malosetti, M., van Eeuwijk, F. A., Haseneyer, G., Kilian, B. & Graner, A. (2012). Genome-wide association studies for agronomical traits in a world wide spring barley collection. *BMC Plant Biology*, 12(1), 16.
27. Pasam, R. K., Sharma, R., Walther, A., Özkan, H., Graner, A. & Kilian, B. (2014). Genetic diversity and population structure in a legacy collection of spring barley landraces adapted to a wide range of climates. *PLoS One*, 9(12), e116164.
28. Paschou, P., Ziv, E., Burchard, E. G., Choudhry, S., Rodriguez-Cintron, W., Mahoney, M. W. & Drineas, P. (2007). PCA-correlated SNPs for structure identification in worldwide human populations. *PLoS genetics*, 3(9), 1672-1686.
29. Pritchard, J. K., Stephens, M. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
30. Ramsay, L., Comadran, J., Druka, A., Marshall, D. F., Thomas, W. T., Macaulay, M., MacKenzie, K., Simpson, C., Fuller, J. & Bonar, N. (2011). INTERMEDIUM-C, a modifier of lateral spikelet fertility in barley, is an ortholog of the maize domestication gene TEOSINTE BRANCHED 1. *Nature genetics*, 43(2), 169-172.
31. Rostoks, N., Ramsay, L., MacKenzie, K., Cardle, L., Bhat, P. R., Roose, M. L., Svensson, J. T., Stein, N., Varshney, R. K. & Marshall, D. F. (2006). Recent history of artificial outcrossing facilitates whole-genome association mapping in elite inbred crop varieties. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(49), 18656-18661.
32. Schulte, D., Close, T. J., Graner, A., Langridge, P., Matsumoto, T., Muehlbauer, G., Sato, K., Schulman, A. H., Waugh, R. & Wise, R. P. (2009). The international barley sequencing consortium—at the threshold of efficient access to the barley genome. *Plant Physiology*, 149(1), 142-147.
33. Shahinnia, F., Ebrahim Sayed-Tabatabaei, B., Sato, K., Pourkheirandish, M. & Komatsuda, T. (2009). Mapping of QTL for intermedium spike on barley chromosome 4H using EST-based markers. *Breeding science*, 59(4), 383-390.
34. Sreenivasulu, N., Graner, A. & Wobus, U. (2008). Barley genomics: an overview. *International journal of plant genomics*, 2008, 1-13.

35. Stracke, S., Presterl, T., Stein, N., Perovic, D., Ordon, F. & Graner, A. (2007). Effects of introgression and recombination on haplotype structure and linkage disequilibrium surrounding a locus encoding Bymovirus resistance in barley. *Genetics*, 175(2), 805-817.
36. Tondelli, A., Xu, X., Moragues, M., Sharma, R., Schnaithmann, F., Ingvarsdson, C., Manninen, O., Comadran, J., Russell, J. & Waugh, R. (2013). Structural and temporal variation in genetic diversity of European spring two-row barley cultivars and association mapping of quantitative traits. *The plant genome*, 6(2), 1-14.
37. Wicker, T., Narechania, A., Sabot, F., Stein, J., Vu, G. T., Graner, A., Ware, D. & Stein, N. (2008). Low-pass shotgun sequencing of the barley genome facilitates rapid identification of genes, conserved non-coding sequences and novel repeats. *BMC genomics*, 9(1), 518.
38. Wicker, T., Schlagenhauf, E., Graner, A., Close, T., Keller, B. & Stein, N. (2006). 454 sequencing put to the test using the complex genome of barley. *BMC genomics*, 7(1), 275.
39. Yeh, F. C., Yang, R., Boyle, T., Ye, Z. & Mao, J. X. (1999). POPGENE, version 1.32: the user friendly software for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada*.
40. Zhang, L. Y., Marchand, S., Tinker, N. A. & Belzile, F. (2009). Population structure and linkage disequilibrium in barley assessed by DArT markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(1), 43-52.