

گروه بندی ژنوتیپ های مختلف جو با استفاده از نشانگرهای مولکولی، مورفولوژیک و

انتقال مجدد ماده خشک به دانه تحت شرایط تنش کمبود آب

مریم نخعی بدرآبادی¹ و مجید شکرپور^{2*}

تاریخ دریافت: 91/2/26 تاریخ پذیرش: 91/8/27

1- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

2- عضو هیات علمی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

* مسئول مکاتبه: E-mail: Shokrpour@ut.ac.ir

چکیده

در مناطق خشک و نیمه خشک، دسترسی به آب در زمان های حساس رشد گیاهان مهمترین عامل محدودکننده عملکرد اقتصادی می باشد. تحمل تنش آبی در یک ژنوتیپ گیاهی به برخی از ویژگی های فیزیولوژیک و مورفولوژیک آن، از جمله صفات موثر در پایداری عملکرد و انتقال مجدد ماده خشک در شرایط تنش خشکی بستگی دارد. در مطالعه حاضر 26 لاین به همراه 14 رقم جو پاییزه، از نظر صفت فیزیولوژیک انتقال مجدد ماده خشک (مقدار، کارایی و سهم انتقال مجدد) و برخی صفات مورفولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفتند. مقایسه میانگین بین ژنوتیپ ها از لحاظ صفات مربوط به انتقال مجدد ماده خشک از ساقه و پدانکل به دانه نشان داد که رقم صحرا و جو لخت چامیکو بیشترین و لاین های Dari-friz88-A-3، Dari-friz88-A-8، Dari-friz88-A-6 و دایتون کمترین میزان انتقال مجدد ماده خشک از ساقه به دانه را در زمان پر شدن دانه دارا بودند. بیشترین عملکرد دانه در هر سه سطح تنش متعلق به لاین F-A3-3 بود. این لاین از وزن هزار دانه، تعداد دانه در سنبله و میزان، کارایی و سهم انتقال مجدد ماده خشک پدانکل و ساقه بالایی برخوردار بود. همچنین، با به کارگیری نشانگرهای AFLP، ISSR و RAPD ارزیابی ژنوتیپی صورت گرفت. ژنوتیپ ها در 4 دسته با ضرایب تشابه متنوعی از 0/33 تا 0/958 دسته بندی شدند. لاین های F-ERB-84-11 و F-A3-3 کمترین و لاین Dari-friz-A-8 و جو لخت آلاندا بیشترین فاصله ژنتیکی را از یکدیگر دارا بودند. نتایج نشان داد که نشانگر AFLP بیشترین کارایی را در تعیین پلی مورفیسم و تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ ها دارا می باشد.

واژه های کلیدی: انتقال مجدد ماده خشک، تنش خشکی، تنوع ژنتیکی، جو و نشانگرهای مولکولی

Grouping of Barley Genotypes Using Molecular and Morphological Markers, and Dry Matter Remobilization to Grain under Water Deficit

M NakhaiiBadrabadi¹ and M Shokrpour^{2*}

Received: May 15, 2012 Accepted: November 17, 2012

¹Former Msc. Student of plant breeding, Univ. of MohagheghArdabili, Ardabil, Iran

²Assist Prof, College of Agriculture and Natural sciences, Univ. of Tehran, Karaj, Iran

Corresponding author: E-mail: shokrpour@ut.ac.ir

Abstract

Water availability at critical times of growth in crops is the most important limiting factor for economic performance in arid and semi-arid regions. Water stress tolerance in a plant genotype depends on some physiological and morphological traits including affecting components in yield stability and dry matter remobilization under drought conditions. In this study, 26 lines along to 14 varieties of winter barley were evaluated for dry matter remobilization (amount, efficiency and contribution of remobilization) and some morphological traits. Mean comparisons between genotypes showed Sahra cultivar and naked barley Chamico were the highest and lines of Dari-friz88-A-3, Dari-friz88-A-8, Dari-Dayton friz88-A-6 and Dayton were the lowest in terms of traits related to remobilization of stem and peduncle to grain during grain filling. The highest yield of seed belonged to line of F-A3-3 in the all levels of stress. This line also had high seed weight, number of grains per spike, and amount, efficiency and contribution of dry matter remobilization of stem and peduncle to grain. Genotyping was also applied using markers of AFLP, ISSR and RAPD. The genotypes were classified to four categories with range of similarity coefficients from 0.33 to 0.958. The lowest and highest genetic distance obtained among lines of F-ERB-84-11 and F-A3-3 and lines of Dari-friz-A-8 and naked barley Alanda, respectively. Results showed that AFLP markers had the most efficiency to determine polymorphism and genetic diversity among the genotypes.

Key words: Barley, drought stress, dry matter remobilization, genetic diversity and molecular markers.

مقدمه

علی‌رغم ده‌ها سال تحقیق، خشکی همچنان چالش اصلی متخصصین کشاورزی است. کشور ایران با متوسط بارندگی سالیانه 260 میلی‌متر، جزو مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب شده و نیمی از اراضی قابل کشت کشورمان در این مناطق قرار دارند (بی‌نام 1388). در مناطق خشک و نیمه خشک، آب و دسترسی به آن در زمان‌های حساس رشد گیاهان زراعی مختلف از جمله جو مهمترین عامل محدودکننده عملکرد اقتصادی می‌باشد (امام 1386). جو نسبت به گندم در برابر خشکی مقاوم‌تر است و بنابراین در مناطق خشک که بارندگی برای تولید گندم کافی نیست، جو بهترین جایگزین برای گندم می‌باشد (بریگز، 1978). تحمل تنش در یک ژنوتیپ گیاهی به برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک آن بستگی دارد. یکی از روش‌های موثر برای استفاده به نژاد گران در معرفی ژنوتیپ‌های پرمحصول برای مناطق خشک، شناخت بهتر صفات فیزیولوژیک موثر در پایداری عملکرد از جمله انتقال مجدد ماده خشک به دانه است (جنت و همکاران 1989). تخمین زده شده است که گیاهان وقتی که خشکی بعد از گرده افشانی را تحمل می‌کنند ذخایر کربوهیدرات قبل از گرده افشانی می‌توانند تا 74% در عملکرد دانه جو دخالت داشته باشند (گالاگر و همکاران 1975). طبق نظریه فیشر و مورر (1978) بهترین معیار تحمل به خشکی میزان عملکرد دانه در شرایط خشکی است. گارسیادل مورال و همکاران (1991) معتقدند که عملکرد دانه در جو تحت تاثیر اجزای عملکرد و نیز طول دوره رشد رویشی و پر شدن دانه می‌باشد. امروزه تلاش برای یافتن معیارهایی که بتوان از آنها بطور موثری در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل یا مقاوم بهره جست ادامه دارد. با این حال احتمال اینکه ژن‌های تحمل به تنش در یک گیاه متمرکز و توسط روش‌های فیزیولوژیک شناخته شود بسیار کم است، بنابراین پایداری عملکرد و مقایسه میزان عملکرد و اجزای آن در

شرایط تنش و مطلوب، از جمله شاخص‌های اصلی انتخاب برای یافتن ژنوتیپ‌های متحمل به تنش در بسیاری از برنامه‌های اصلاحی به شمار می‌رود (سایمان و همکاران 1993).

تنوع ژنتیکی این امکان را فراهم می‌کند که انتخاب و اصلاح گیاه از نظر صفات مورد نظر عملی گردد (رائو 2004). استفاده از نشانگرهای مولکولی همراه با نشانگرهای مورفولوژیک کمک شایانی در توصیف، غربال و ارزیابی تنوع می‌نماید (فرشادفر 1995). محققان بسیاری گروه‌های بزرگ متفاوتی از ژن‌ها که در پاسخ به تنش کمبود آب تغییر پیدا می‌کنند را مطالعه نموده‌اند (هازن و همکاران 2005 و یاماگوچی-شینوزاکی 2005 و ایتو و همکاران 2006). اگرچه تعداد زیادی از ژن‌ها و پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش مطالعه شده‌اند، بیشتر اجزای مولکولی درگیر در مسیر هدایت تنظیم ژن تحت شرایط تنش هنوز تشخیص داده نشده‌اند و وظیفه دقیق آن‌ها در مقاومت یا حساسیت مبهم باقی مانده است. یکی از راهکارهای تشخیص این اجزا می‌تواند نشانگر مولکولی وابسته به صفات مقاومت به تنش آبی و استفاده از این نشانگرها برای انتخاب غیر مستقیم برای مقاومت باشد (کورتویس و همکاران 2000). تجزیه نشانگرهای مولکولی اجازه می‌دهد که اجزای ژنوم شرکت کننده در تنوع ژنتیکی یک صفت تشخیص داده شود و بنابراین انتخاب ژنوتیپ‌های برتر برای این مکان‌های ژنی، بدون توجه به ابهامات ناشی از اثر متقابل محیط و خطای آزمایشی بر روی ژنوتیپ صورت گیرد. تکنیک AFLP روشی مناسب برای ایجاد صدها نشانگر ژنتیکی مثبت است که به عنوان ابزاری کارآ برای ارزیابی و تعیین سطح تنوع ژنتیکی در مجموعه‌های ژرم‌پلاسمی به کار می‌رود (زابئو و ووس 1993 و ووس و همکاران 1995). قدرت تکثیر بالا، سرعت تولید و فراوانی بالای چند شکلی قابل تشخیص، تجزیه AFLP را به یک تکنیک جالب برای تعیین نقشه پیوستگی ژن‌ها با استفاده از جمعیت‌های نقشه‌یابی تبدیل کرده است

پس از خارج شدن کامل آب ثقلی گلدان توزین شد و پس از کسر وزن گلدان و خاک خشک مقدار آب نگهداری شده در ظرفیت زراعی تعیین شد. برای اعمال تنش (1/2 آب آبیاری)، گلدان ها بعد از سنبله دهی به میزان 50 درصد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. برای ارزیابی انتقال مجدد مواد پرورده به دانه، در دو مرحله گرده افشانی و رسیدگی فیزیولوژیک نمونه برداری صورت گرفت. مقدار، کارایی و سهم انتقال مجدد مواد پرورده از ساقه به دانه با توجه به روش‌های پیشنهادی ون سن فورد و همکاران (1987) محاسبه گردید:

میزان ماده خشک اندام - میزان ماده خشک اندام = انتقال مجدد ماده خشک در مرحله رسیدگی (g) در مرحله گرده‌افشانی (g)

$100 \times$ مقدار ماده خشک در گرده‌افشانی/انتقال مجدد ماده خشک = کارایی انتقال مجدد (%) $100 \times$ ماده خشک دانه‌ها در مرحله رسیدگی/ انتقال مجدد ماده خشک = سهم انتقال مجدد (%)

پس از رسیدگی فیزیولوژیکی، صفات مورفولوژیک عملکرد دانه، وزن هزار دانه، ارتفاع بوته، طول سنبله، طول ریشک، طول محور سنبله، طول پدانکل، طول میانگره دوم و تعداد دانه در سنبله اندازه گیری و با برنامه آماری SPSS-16 تجزیه آماری داده‌ها انجام گرفت. برای تشخیص ژنوتیپ‌های دارای شباهت و خویشاوندی بیشتر و به منظور پی بردن به فاصله ژنتیکی آن‌ها، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در سه سطح شاهد، تنش آبی 1/2 و تنش قطع آبیاری به طور جداگانه صورت گرفت. تجزیه تابع تشخیص نیز به منظور تایید الگوی گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بکار گرفته شد.

استخراج دان. 1، با روش CTAB مطابق با روش سقای معروف و همکاران (1984) صورت گرفت. در این مطالعه برای بررسی تنوع مولکولی از نشانگرهای غالب AFLP، ISSR و RAPD استفاده شد. تجزیه AFLP براساس روش ووس و همکاران (1995) با اعمال تغییرات جزئی انجام گرفت. در این روش دان. 1 ژنومی با

(هارتل و همکاران 1999). از دیگر نشانگرهای مبتنی بر پی.سی.ار نشانگر غالب RAPD می‌باشد، هرچند که قابلیت تکثیر ضعیف و غیراختصاصی بودن آن استفاده از RAPD را برای مطالعات ژنتیکی محدود کرده است (ولش و مک کلند 1990). همچنین نشانگرهای ISSR از دیگر نشانگرهای مبتنی بر پی.سی.ار هستند که مزایای هر دو نشانگر AFLP و RAPD را دارا و فاقد معایبی از قبیل تکرارپذیری کم و هزینه بالا می‌باشند (ردی و همکاران 2002). در مناطق نیمه خشک ارقام جو در مراحل نهایی رشد خود معمولاً با مشکل کم آبی و تنش خشکی مواجه هستند. بنابراین این تحقیق، برای شناسایی ارقام مقاوم به خشکی در مرحله سنبله دهی و دارای عملکرد بالا با استناد به خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک سازگار به خشکی و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی AFLP، ISSR و RAPD طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی 89-1388 به منظور بررسی تنوع ژنتیکی 26 لاین و 14 رقم جو پاییزه، از نظر صفت فیزیولوژیک انتقال مجدد ماده خشک و برخی صفات مورفولوژیک به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی با 3 تکرار، در گلخانه دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردید. سطوح تنش آبی به عنوان عامل اصلی به صورت آبیاری کامل (شاهد)، تنش متوسط (1/2 آب آبیاری) و تنش شدید (قطع آبیاری) و ژنوتیپ‌ها به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. برای محاسبه میزان تنش، ظرفیت زراعی خاک به روش وزنی تعیین شد. برای محاسبه ظرفیت زراعی خاک، ابتدا 4000 گرم خاک در داخل آون در درجه حرارت 103 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از 48 ساعت توزین شد و وزن خاک خشک اندازه‌گیری شد. سپس خاک خشک شده در گلدانی ریخته شده و تا حد اشباع آب به آن اضافه شد و

نتایج و بحث

طبق نتایج تجزیه واریانس، بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌دار وجود داشت. همچنین، برای اکثر صفات به جز تعداد دانه در سنبله و طول میانگره دوم، بین سطوح تنش خشکی تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید (داده‌های مربوطه آورده نشده است). مقایسه میانگین بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات مربوط به انتقال مجدد ماده خشک از ساقه و پدانکل به دانه نشان داد که رقم صحرا و جو لخت چامیکو بیشترین و لاین‌های Dari-friz88-A-3، Dari-friz88-A-8، Dari-friz88-A-6 و فریز88-A-6 دایتون کمترین میزان انتقال مجدد ماده خشک از ساقه به دانه را در زمان پر شدن دانه دارا بودند (جدول 1). بلام (1999) یکی از عوامل موثر بر مقدار انتقال مجدد را نسبت منبع به مخزن بیان کرده و بر این باور است که بالا و پایین بودن این نسبت به ترتیب باعث افزایش و کاهش انتقال مجدد مواد خواهد شد. بیشترین میانگین سهم انتقال مجدد ماده خشک ساقه به دانه، مربوط به رقم‌های صحرا (40/24%) و جو لخت آلاندا (37/16%) بود و کمترین مقدار آن به Dari-friz88-A-3 (3/26%) و سپس دایتون (3/71%) تعلق داشت. پایین بودن این مقدار می‌تواند علاوه بر پتانسیل ژنتیکی، به دلیل برخورد دوره پر شدن دانه آن‌ها با تنش گرمایی پایان فصل علاوه بر تنش خشکی اعمال شده باشد. از نظر کارایی انتقال مجدد ماده خشک ساقه، در سطح شاهد ژنوتیپ‌های ABY1-14 (64/14%)، ABY1-9 (49/98%)، جو لخت لیگنی (51/1%) و قره‌آرپا (57/52%)، بیشترین و ژنوتیپ‌های Dari-friz88-A-10 (11/25%)، رقم دشت (12/65%)، Dari-friz88-A-14 (12/95%) و F-2 (13/3%) کمترین کارایی انتقال مجدد از ساقه را نشان دادند. لاین Dari-friz88-A-5 را می‌توان برترین ژنوتیپ از نظر این صفت، تحت شرایط تنش معرفی کرد. چون، این لاین در هر دو سطح تنش آبی بیشترین کارایی را برای انتقال مجدد ماده خشک از ساقه به دانه داشت، در حالی که در شرایط بدون تنش، دارای کارایی نسبتاً

استفاده از آنزیم‌های *ECoR1* و *Mse1* مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. تعداد 8 ترکیب آغازگری مربوط به آداپتورهای *ECoR1* و *Mse1* استفاده شد که تنها 2 جفت آغازگر تنوع خوبی نشان دادند و سایر جفت آغازگرها وضوح و قابلیت تکرارپذیری کافی نداشتند. همچنین تعداد 7 آغازگر از 15 آغازگر ارزیابی شده ISSR و یک آغازگر از 5 آغازگر ارزیابی شده RAPD که قابلیت تکرار پذیری کافی داشتند، جهت بررسی تنوع بین ژنوتیپ‌ها استفاده گردید. برای تجزیه داده‌های مولکولی از نرم‌افزارهای Gene Alex 6.3، NTSYSpc، 2.02 و POPGENE 1.32 استفاده شد. شاخص اطلاعات شانون (ژو و همکاران 1998) برای تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از فرمول $H = -\sum f_i \ln(f_i)$ (فراوانی یک نوار AFLP، ISSR یا RAPD در جمعیت) محاسبه شد. برای محاسبه اطلاعات چندشکلی¹ از فرمول $PIC_i = \frac{2f_i(1-f_i)}{1-f_i}$ استفاده شد که در آن f_i فراوانی قطعه (آلل) تکثیر شده و $1-f_i$ فراوانی آلل نول (عدم وجود نوار) می‌باشد (رولدن روییز و همکاران 2001). شاخص نشانگر² از حاصلضرب پیک در تعداد نوارهای چند شکل هر ترکیب آغازگر بدست آمد (پاول و همکاران 1996). جهت بررسی و ارزیابی روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها بر اساس فواصل ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای به روش لینکاژ کامل³ و با استفاده از ماتریس فاصله ژنتیکی دایس (دایس 1945 و نی و لی 1979) انجام شد. به منظور بررسی میزان ارتباط داده‌های مولکولی و مورفوفیزیولوژیک، آزمون مانتل با استفاده از ماتریس فاصله ژنتیکی دایس برای داده‌های مولکولی و ماتریس فاصله به روش مربع اقلیدسی برای صفات مورفولوژیک در هر سطح تنش به طور جداگانه انجام شد.

¹ PIC: Polymorphic Information Content

² MI: Marker Index

³ Complete linkage

تامین مواد فتوسنتزی است. در این تحقیق، بیشترین عملکرد دانه در هر سه سطح تنش متعلق به لاین F-A3-3 (21 گرم) بود. این رقم دارای وزن هزار دانه، تعداد دانه در سنبله و میزان، کارایی و سهم انتقال مجدد ماده خشک پدانکل و ساقه بالایی بود که در نتیجه موجب افزایش عملکرد دانه و همچنین حفظ این عملکرد تحت شرایط تنش خشکی در این ژنوتیپ شده است. بهترین ژنوتیپها از نظر عملکرد دانه در دو سطح شاهد و تنش چامیکو و صحرا بودند و در سطح تنش قطع آبیاری ژنوتیپهای F-A3-3، ABY1-6، جو لخت چامیکو، دشت و صحرا به ترتیب بالاترین عملکرد را نشان دادند (جدول 1). بالا بودن عملکرد این ژنوتیپها در شرایط کمبود آب می‌تواند ناشی از کم بودن رشد رویشی آنها باشد که موجب حفظ رطوبت خاک طی دوره رشد زایشی گیاه شده و در نتیجه گیاه کمتر تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد (طوسی مجرد و قنادها 1385).

گروه‌بندی ژنوتیپها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد و با بکار بردن مربع فاصله اقلیدسی برای هر سه سطح انجام شد. تجزیه تابع تشخیص به منظور تایید الگوی گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بکار گرفته شد و با معنی‌دار شدن آزمون‌های پیلایس تریس¹، ویلکس لامبدا²، هتلینگ³ و رویز⁴ در سطح یک درصد گروه‌بندی نمودارهای خوشه‌ای بر اساس سه گروه تایید شد. در کل، در شرایط بدون تنش بهترین ژنوتیپها از نظر کارایی و سهم انتقال مجدد ماده خشک ساقه و پدانکل که عملکرد دانه و تعداد دانه در سنبله بالایی نیز داشتند، ژنوتیپهای گروه سوم بودند که ارقام جو لخت به همراه ژنوتیپهای صحرا، دشت، ABY1-4، ABY1-14 و F-A3-3 در این خوشه قرار گرفتند. در شرایط تنش آبی 1/2 و قطع آبیاری، بهترین ژنوتیپها، ژنوتیپهای گروه دوم و سوم بودند که از نظر کارایی انتقال

پایینی بود. رقم جو لخت چامیکو را نیز می‌توان حساس‌ترین رقم از لحاظ این صفت معرفی کرد. زیرا، علاوه بر اینکه کمترین میزان را در هر دو سطح تنش داشت، با افزایش تنش آبی مقدار کارایی انتقال مجدد ساقه در آن کمتر شد. از لحاظ مقدار انتقال مجدد ماده خشک از پدانکل، ژنوتیپهای جو لخت²، صحرا و جو لخت چامیکو بیشترین و ژنوتیپهای دایتون و Dari-friz88-A-3 کمترین مقدار انتقال مجدد ماده خشک از پدانکل را داشتند. بیشترین میانگین سهم انتقال مجدد ماده خشک پدانکل به دانه، مربوط به رقم‌های صحرا (4/60%) و بعد از آن به ترتیب رقم‌های جو لخت پتونا، دشت، جو لخت آلوئه و جو لخت استیپا که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، تعلق داشت. کمترین میانگین نیز متعلق به Dari-friz88-A-3 (0/519%) بود. لاین ABY1-9 (46/81%) بیشترین کارایی انتقال مجدد را در سطح شاهد داشت، و رقم‌های Dari-friz88-A-14 (8/6%) و F-A3-2 (7/89%) کمترین کارایی انتقال مجدد را دارا بودند. در سطح تنش 1/2 نیز بیشترین کارایی مربوط به لاین ABY1-14 (52/1%) و کمترین کارایی مربوط به رقم‌های Dari-friz88-A-3 (8/66%) و Dari-friz88-A-4 (8/62%) بود. در تنش قطع آبیاری، لاین‌های ABY1-14 (47/97%)، F-ERB-85-10 (47/65%) و Dari-friz88-A-10 (46/66%) به ترتیب بالاترین کارایی انتقال مجدد را داشتند و رقم جو لخت لیگنی (11/95%) کمترین کارایی را نشان داد. در گزارشی از طوسی مجرد و قنادها (1385) به جبران کاهش کارایی انتقال مجدد ماده خشک در پدانکل به وسیله افزایش کارایی انتقال مجدد ماده خشک از بقیه گیاه در بسیاری از ژنوتیپها اشاره شده است. نتایج تحقیق اخیر نیز با یافته‌های این محققین همخوانی داشت. همچنین در این گزارش بیشترین آسیب ناشی از تنش خشکی مربوط به عملکرد دانه می‌باشد که می‌تواند ناشی از کاهش شدید اجزای عملکرد سنبله (مانند تعداد دانه در سنبله و وزن هزار دانه) باشد و دلیل آن بروز تنش خشکی در دوره دانه بستن و کاهش توان گیاه در

1 - Pillai's Trace

2 - Wilk's Lambda

3 - Hotelling's Teace

4 - Roy's Largest Root

همکاران 2004). همچنین، شاخص نشانگری که به عنوان یک معیار کارایی در تعیین چندشکلی استفاده می‌گردد، محاسبه شد. بیشترین شاخص مارکری متعلق به آغازگر PA1 با مقدار 14/8 بود (جدول 2). آغازگرهای ISSR در مجموع 49 نوار چندشکل تولید کردند. تعداد قطعات تکثیر شده با آغازگرهای مختلف بسیار متفاوت بود. به طوری که، آغازگرهای PI3، PI34، PI29 و PI30 تنها با یک نوار چندشکل و میانگین درصد چندشکلی 22/5% کمترین و PII با 13 نوار چندشکل و درصد چندشکلی 76/47% بیشترین میزان چندشکلی را نشان دادند. میزان آغازگرهای چندشکل برای ژنوتیپ‌های مختلف جو در مطالعات کرایچ و همکاران (1998)، سلباک و مولینا (2000)، کوشیوا و همکاران (2001)، هونگ و همکاران (2001)، شی و همکاران (2004) و کروت و همکاران (2005)، به ترتیب 42، 93، 45، 33، 15 و 45 درصد بود. بیشترین پیک مربوط به PI29 (0/469) و کمترین پیک مربوط به PI3 (0/289) بود. ولی از لحاظ شاخص نشانگری، PII با شاخص مارکری (4/3) بالاترین و PI3 با شاخص مارکری (0/289) کمترین کارایی را در تعیین چندشکلی داشتند (جدول 2). همچنین میزان اطلاعات چندشکلی برای نشانگر RAPD، pR1 (پیک: 0/269) و شاخص نشانگری آن (پیک: 2/69) بود (جدول 2).

مجدد ماده خشک ساقه و پدانکل، سهم انتقال مجدد ماده خشک ساقه و پدانکل، تعداد دانه در سنبله و عملکرد دانه برتر بودند. اما وجه مشترک کلیه این گروه‌بندی‌ها، تفکیک ارقام جو لخت از اکثر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در یک یا دو خوشه متمایز بود (داده‌های مربوطه آورده نشده است).

با بررسی چندشکلی‌های دان‌ا. بین 40 ژنوتیپ جو، دو ترکیب آغازگری AFLP، در مجموع 109 نوار دان‌ا. تولید کردند، که از بین آن‌ها 74 نوار چند شکل (پلی-مورف) و 35 نوار منومورف بودند. تعداد نوار چند شکل برای ترکیب آغازگری PA1، 41 نوار (با درصد چندشکلی 71/92%) و برای ترکیب آغازگری PA2، 33 نوار (با درصد چندشکلی 63/46%) بود که این نشان دهنده درصد بالای چندشکلی در بین ژنوتیپ‌ها و کارایی بالای این نشانگر در طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف جو بود (جدول 2). میزان اطلاعات چندشکلی برای آغازگر PA1، 0/361 و برای آغازگر PA2، 0/241 بدست آمد. مقدار پیک بالا نشان دهنده کارایی آنها در تمایز ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق بود که می‌توان آن‌ها را جهت مطالعات مشابه پیشنهاد نمود. معیار پیک توان تمایز هر آغازگر را از طریق تعداد آلل‌ها در یک مکان ژنی و فراوانی نسبی آلل‌ها تعیین می‌کند (مام اینووچ و

جدول 1- مقایسه میانگین بین ژنوتیپ‌های جو مورد بررسی از لحاظ برخی صفات مورفوفیزیولوژیک

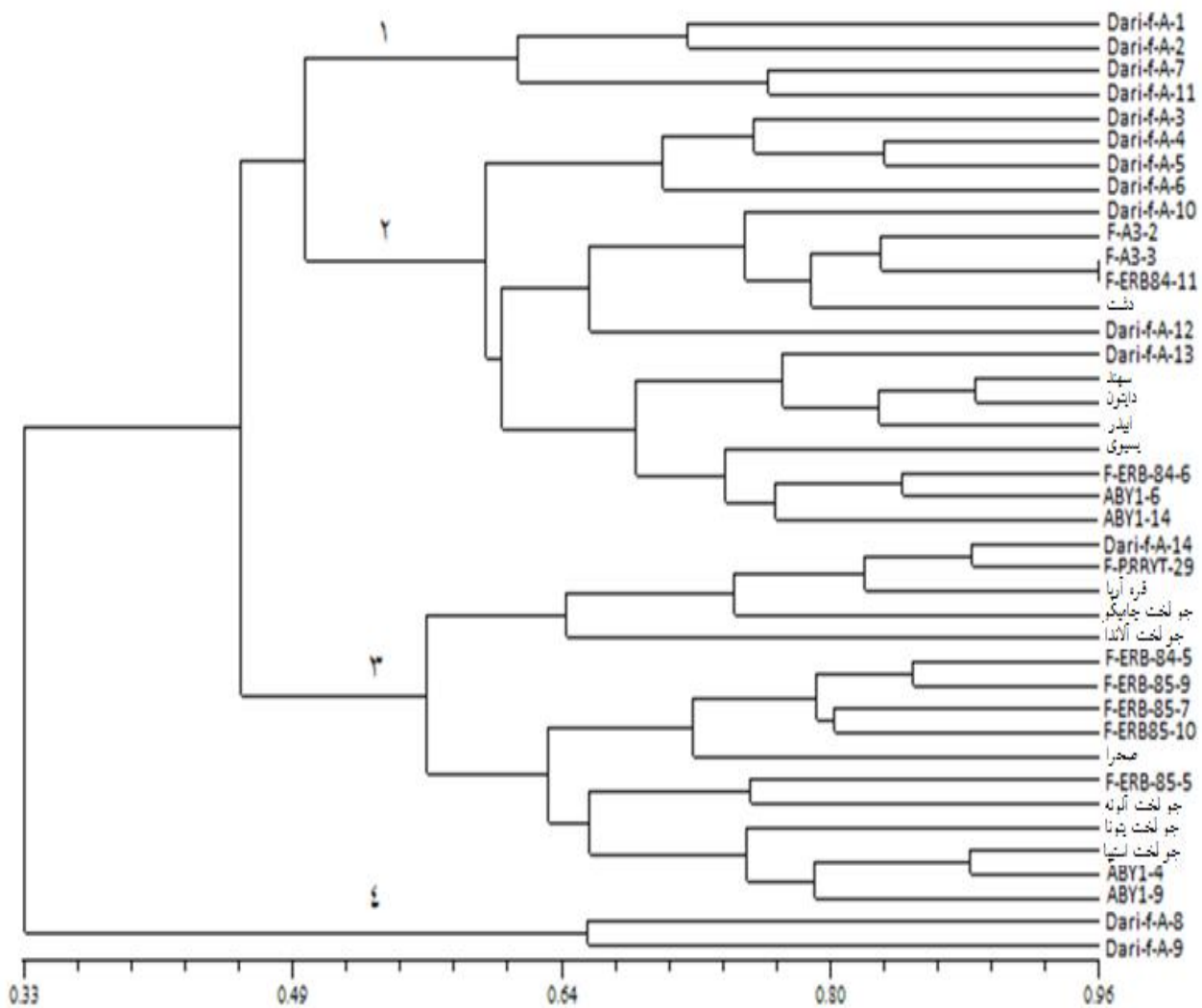
ردیف	ژنوتیپ‌ها	میزان انتقال ساقه (g)	سهم انتقال ساقه (%)	کارایی انتقال مجدد ساقه (%)			کارایی انتقال مجدد پدانکل (%)			وزن هزار دانه در سنبله	تعداد دانه در سنبله
				میزان انتقال پدانکل (g)	سهم انتقال پدانکل (%)	شاهد	1/2	قطع آبیاری	1/2		
10/89	Dari-friz88-A-1	0/028	0/855	0/004	1/193	27/74	24/60	27/27	0/39	35/8	10/89
12/03	Dari-friz88-A-2	0/036	0/732	0/005	1/602	30/39	17/20	32/16	0/43	35/5	12/03
11/68	Dari-friz88-A-3	0/012	0/447	0/002	0/519	17/02	8/66	22/08	0/41	35/5	11/68
10/40	Dari-friz88-A-4	0/033	0/582	0/007	2/835	15/59	8/62	39/83	0/37	34/8	10/40
10/61	Dari-friz88-A-5	0/088	1/190	0/019	2/140	22/17	11/39	32/99	0/33	29/9	10/61
11/17	Dari-friz88-A-6	0/030	0/732	0/005	1/072	21/55	22/22	29/68	0/49	43/9	11/17
11/11	Dari-friz88-A-7	0/031	0/843	0/005	1/495	24/78	24/76	37/74	0/38	35/2	11/11
10/29	Dari-friz88-A-8	0/018	0/598	0/003	0/914	18/89	19/09	33/74	0/34	32/9	10/29
11/33	Dari-friz88-A-9	0/017	0/543	0/003	0/779	19/7	10/49	30/29	0/41	36/1	11/33
12/37	Dari-friz88-A10	0/027	0/538	0/006	1/331	11/25	27/74	46/66	0/44	35/6	12/37
10/59	Dari-friz88-A11	0/027	0/755	0/004	1/419	25/57	22/05	41/52	0/32	30/7	10/59
11/88	Dari-friz88-A12	0/027	0/728	0/005	1/200	38/84	19/37	30/47	0/44	37/3	11/88
11/74	Dari-friz88-A13	0/033	0/841	0/004	1/071	27/76	24/22	34/59	0/44	37/6	11/74
12/64	Dari-friz88-A14	0/021	0/464	0/003	0/627	12/95	17/55	24/33	0/46	37/2	12/64
11/15	قره‌آریا	0/030	0/861	0/005	1/307	49/96	22/84	27/30	0/38	34/2	11/15
10/70	سهند	0/025	0/567	0/004	1/069	15/02	23/6	27/00	0/38	35/6	10/70
11/40	آبیدر	0/045	0/967	0/007	1/587	35/35	31/77	41/59	0/46	41/0	11/40
11/47	دایتون	0/013	0/350	0/002	1/581	15/91	13/46	16/91	0/41	36/2	11/47
11/55	F-A3-2	0/022	0/571	0/004	0/885	13/3	19/56	30/06	0/42	36/0	11/55
11/65	F-A3-3	0/101	1/403	0/020	3/689	24/63	21/30	13/93	0/36	31/2	11/65
11/05	F-PRBYT-29	0/050	1/090	0/009	2/730	23/64	33/00	21/48	0/30	26/2	11/05
11/00	F-ERB-84-11	0/035	0/756	0/005	1/201	18/4	26/92	45/00	0/44	39/5	11/00
11/33	F-ERB-84-5	0/018	0/591	0/003	0/890	17/34	16/02	25/78	0/39	34/7	11/33
11/59	F-ERB-84-6	0/024	0/721	0/004	0/944	40/82	24/62	24/62	0/42	36/7	11/59
10/26	F-ERB-85-5	0/024	0/755	0/004	1/013	16/06	21/28	34/08	0/36	35/1	10/26
11/48	F-ERB-85-7	0/039	0/914	0/006	1/507	31/47	38/32	20/63	0/45	39/1	11/48
10/11	F-ERB-85-9	0/037	0/935	0/006	1/591	32/03	28/36	33/49	0/38	37/2	10/11
11/22	F-ERB-85-10	0/039	0/810	0/005	1/263	34/56	32/02	47/65	0/41	35/8	11/22
11/66	صحرا	0/165	1/562	0/040	4/604	30/37	36/74	30/62	0/24	18/8	11/66
11/37	یسوی	0/057	1/022	0/009	2/206	40/25	27/96	44/16	0/42	36/5	11/37
12/26	جو لخت آلونه	0/067	1/318	0/018	3/655	27/59	45/42	40/47	0/24	19/5	12/26
15/60	جو لخت چامیکو	0/155	1/025	0/034	2/629	33/42	15/51	13/69	0/26	16/7	15/60
9/29	دشت	0/046	1/315	0/016	4/210	12/65	14/81	29/44	0/21	21/5	9/29
12/74	جو لخت پتونا	0/066	1/391	0/012	4/246	19/48	31/57	14/07	0/22	15/1	12/74
12/05	جو لخت آلاندا	0/108	1/527	0/078	4/144	51/1	11/23	11/95	0/22	17/9	12/05
12/22	جو لخت استیا	0/049	1/237	0/016	3/831	36/07	20/87	19/81	0/28	22/6	12/22
10/37	ABY1-4	0/025	0/980	0/005	2/554	31/78	34/41	37/83	0/23	23/1	10/37
12/96	ABY1-9	0/052	1/108	0/008	2/021	57/52	33/31	28/28	0/38	30/5	12/96
14/46	ABY1-6	0/081	1/179	0/011	3/462	46/85	37/83	43/09	0/40	28/8	14/46
12/74	ABY1-14	0/058	1/200	0/012	3/322	64/14	52/10	47/97	0/35	28/2	12/74
1/79	(%)LSD	0/269	0/276	0/282	0/271	13/2	13/2	10/68	0/083	6/3	1/79

(با ضریب تشابه 0/33) بیشترین فاصله ژنتیکی را از یکدیگر دارا بودند. از ژنوتیپ‌هایی که بیشترین فاصله را از یکدیگر دارند، می‌توان به عنوان والدین جهت ایجاد تنوع ژنتیکی بیشتر در نسل‌های در حال تفکیک استفاده کرد. شناسایی تلاقی‌های حاوی هتروزیس بالا مهم‌ترین قدم در تهیه محصولات هیبرید است. معمولا والدین با قدرت ترکیب‌پذیری بالاتر و فاصله ژنتیکی بیشتر می‌توانند هیبریدهایی با عملکرد بالاتر تولید کنند. چن و همکاران (1994)، در بررسی 45 ژنوتیپ گندم در مطالعات خود درجه تشابه 0/65 الی 0/99 را گزارش کردند. میانگین کل ضرایب تشابه بین ژنوتیپ‌ها نیز 0/69 بود. متوسط ضریب شباهت ژاکارد بین ارقام جو در مطالعات کروت و همکاران (2005) 0/53، سلباک و مولینا (2000) 0/52 و کرایچ و همکاران (1998) 0/25 گزارش شده است. مناسب بودن روش تجزیه خوشه‌ای با محاسبه ضریب همبستگی کوفنتیک تعیین گردید، که از بین ضرایب تشابه نی، جاکارد و دایس، ضریب تشابه دایس دارای بیشترین همبستگی کوفنتیک (77/14%) بود.

حداکثر مقدار پیک برای یک نشانگر مثل RAPD یا AFLP (یا هر نشانگر دو آلی) برابر 0/5 است. در مقایسه بین نشانگرهای AFLP و ISSR، میانگین پیک و شاخص مارکری به ترتیب برای نشانگر AFLP، 0/301 و 11/375، برای نشانگر ISSR، 0/382 و 1/21 و برای نشانگر RAPD، 0/269 و 2/69 بود. از نظر تمایز ژنوتیپ-ها (پیک) نشانگر ISSR برتر و از لحاظ شاخص مارکری، نشانگر AFLP برتر بود که حاکی از آن است که نشانگر AFLP کارایی بالاتری در تعیین پلی‌مورفیسم و تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها دارد. به طور کلی، با توجه به بالا بودن مقدار پیک و شاخص مارکری در نشانگرهای AFLP، کاربرد این سیستم نشانگری برای انگشت‌نگاری ارقام به منظورهای مختلف از جمله حفظ خلوص رقم و کنترل کیفیت توصیه شده است (بوهن و همکاران 1999). همچنین، دامنه تشابه برای این ژنوتیپ‌ها با استفاده از نشانگرهای AFLP، ISSR و RAPD بر اساس ضریب تشابه دایس از 0/33 تا 0/958 بود (جدول 3). در نتیجه لاین‌های F-ERB-84-11 و F-A3-3 (با ضریب تشابه 0/958) کمترین و لاین Dari-friz-A-8 و جو لخت آنادا

جدول 2- تعداد نشانگرهای چندشکل تولید شده توسط آغازگرهای AFLP، ISSR و RAPD در ژنوتیپ‌های مختلف جو

توالی آغازگرها	کد	PIC	MI	شاخص شانون	تعداد نوارهای چند شکل	تعداد نوارهای منومورف	درصد چند شکلی
E-AAG/M-CAA	PA1	0/361	14/80	0/537	41	16	71/92
E-AAG/M-CAC	Aa2	0/241	7/95	0/386	33	19	63/46
5-AGACAGACGC-3	PI1	0/33	4/30	0/509	13	4	76/47
5-GACAGACAGACAGACA-3	PI2	0/323	1/29	0/492	4	4	50
5-AGAGAGAGAGAGAGAGC-3	PI3	0/289	0/289	0/469	1	4	20
5-AACAACAACGC-3	PI5	0/448	1/34	0/639	3	3	50
5-CACACACACACACACAG-3	PI34	0/42	0/42	0/611	1	3	25
5-ACACACACACACACACYT-3	PI29	0/469	0/469	0/662	1	4	20
5-GAGAGAGAGAGAGAGAC-3	PI30	0/399	0/399	0/589	1	3	25
5-GAGCCCGTT-3	PR1	0/269	2/69	0/435	10	2	83



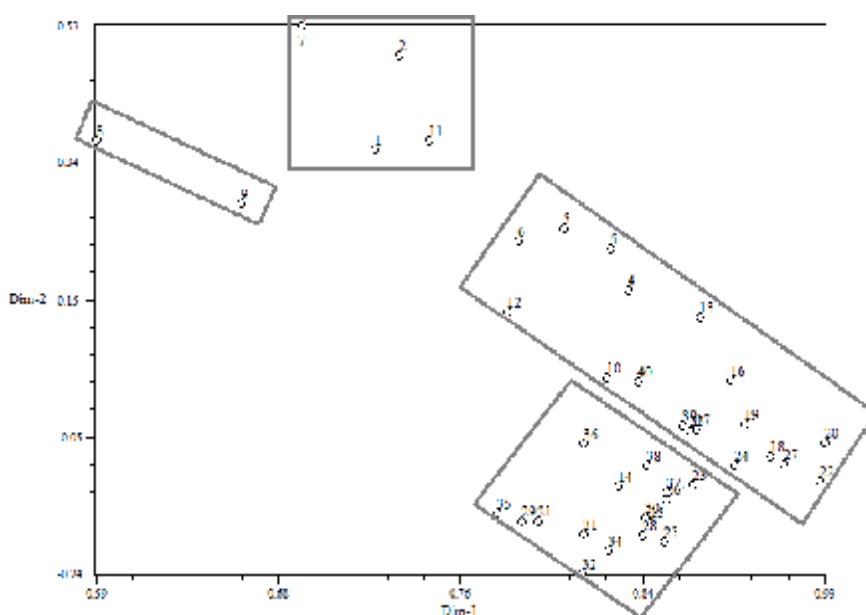
شکل 1- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه بر اساس داده‌های مولکولی (AFLP, ISSR و RAPD) با استفاده از روش لینکاژ کامل و فاصله ژنتیکی دایس

آنجایی‌که نشانگرهای AFLP و ISSR نشانگرهایی تصادفی هستند، قرارگیری ژنوتیپ‌های متفاوت در کنار هم، شاید به علت تکثیر مناطق غیر رمز کننده توسط آغازگرهای مورد استفاده در این بررسی باشد. البته تاثیر عوامل محیطی مانند تنش آبی و گرمایی در بروز صفات فنوتیپی را نیز نباید فراموش کرد (رولدن رویز و همکاران، 2001).

به عبارت دیگر دندروگرام مربوط به آن شباهت افراد را بهتر از سایر روش‌ها نشان داد. لی و همکاران (2007) برای بررسی تنوع ژنتیکی 80 رقم جو، تحت تنش شوری و با استفاده از مارکرهای AFLP, ISSR, REMAP و RAPD از ضریب تشابه دایس استفاده کردند. با برش نمودار درختی در فاصله 0/55 واحد مقیاس‌بندی نرم‌افزار SPSS، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به 4 گروه تقسیم شدند (شکل 1). در این گروه‌بندی، کلیه ژنوتیپ‌های جو لخت در یک خوشه متمایز قرار گرفتند. از

دورگ گیری، ارقام با تفاوت ژنتیکی بیشتر، امکان ایجاد هتروزیس بیشتر و یا انتقال صفات نادر را در بر خواهند داشت و انجام تلاقی والدین دورتر کارایی بیشتری در این زمینه خواهد داشت. بنابراین بر طبق نمودار درختی حاصل (شکل 1)، تلاقی بین لاین‌های

نتایج حاصل بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بین 40 ژنوتیپ مورد مطالعه بود. افزون بر این، از ژنوتیپ‌های خوشه‌های مختلف می‌توان در امر دورگ‌گیری برای ایجاد تنوع جدید و گزینش لاین‌های برتر استفاده کرد. لذا از آنجائیکه ارقام دورتر با داشتن چندشکلی بیشتر تفاوت بیشتری را از نظر مولکولی دارا هستند، از نظر



شکل 2- نمودار دو بعدی ژنوتیپ‌های جو بر اساس دو مولفه هماهنگ اصلی اول حاصل از تجزیه داده‌های AFLP، ISSR و RAPD

همچنین بین داده‌های مولکولی و مورفولوژیک در هر سه سطح تنش همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. به عبارت دیگر تمایز بین ژنوتیپ‌ها بر اساس هر کدام از نشانگرهای مذکور متفاوت بود. با توجه به اینکه صفات مورفوفیزیولوژیک مربوط به بخش‌های رمزکننده ژنوم است، اما قطعات دان‌ا تکثیر شده در نشانگرهای ISSR و AFLP، هم مربوط به بخش‌های رمز کننده و هم مربوط به بخش‌های غیر رمزکننده ژنوم است و از جهت

گروه اول (Dari-friz88-A-1، Dari-friz88-A-2، Dari-friz88-A-7 و Dari-friz88-A-11) و گروه چهارم (Dari-friz88-A-8 و Dari-friz88-A-9) که بیشترین فاصله ژنتیکی را از یکدیگر دارند برای نیل به این هدف مفید خواهد بود.

تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی به عنوان روش مکمل تجزیه خوشه‌ای نیز، گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد. سه مولفه هماهنگ اصلی اول حدود 75/21 درصد تغییرات مولکولی بین ژنوتیپ‌ها را تبیین کردند (شکل 2).

با محاسبه همبستگی و آزمون معنی‌داری مانتل (جدول 4)، بین ماتریس‌های فاصله حاصل از داده‌های مولکولی و داده‌های مربوط به انتقال مجدد ماده خشک،

نتیجه گیری کلی

می توان اظهار داشت که بین 40 ژنوتیپ جو مورد بررسی، از لحاظ صفات مورفوفیزیولوژیک و مولکولی تنوع قابل توجهی وجود داشت. گرچه بین داده های مولکولی و مورفولوژیک در هر سه سطح تنش همبستگی معنی داری مشاهده نشد و تمایز بین ژنوتیپها بر اساس هر کدام از نشانگرهای مذکور متفاوت بود، اما می توان از تنوع موجود بین ژنوتیپها از لحاظ هر کدام از نشانگرهای مورفوفیزیولوژیک و مولکولی به طور جداگانه در برنامه های اصلاحی بهره جست و از طریق دورگ گیری بین ژنوتیپهای با تفاوت ژنتیکی بیشتر، امکان ایجاد جمعیت های دارای تفرق برای صفات مورد نظر و یا انتقال صفات نادر را فراهم نمود. همچنین با مقایسه بین نشانگرهای مولکولی، از نظر تمایز ژنوتیپها (پیک) نشانگر ISSR برتر و از لحاظ شاخص مارکری، نشانگر AFLP برتر بود که حاکی از آن است که نشانگر AFLP از کارایی بالاتری در تعیین پلی مورفیسم و تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپها برخوردار است.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی به خاطر در اختیار گذاشتن امکانات این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارم.

جدول 4- ضرایب همبستگی آزمون مانتل

بین داده های مولکولی و انتقال مجدد ماده خشک	بین داده های مولکولی و مورفولوژیک	
شاهد	0/031 ^{ns}	-0/015 ^{ns}
تنش 1/2	0/066 ^{ns}	0/04 ^{ns}
آبیاری	0/025 ^{ns}	-0/051 ^{ns}
تنش قطع آبیاری		

ns: غیر معنی داری

دیگر این صفات تحت تاثیر شرایط محیطی نیز قرار می گیرند، در نتیجه عدم وجود همبستگی بالا بین این نشانگرهای مولکولی و صفات مورفوفیزیولوژیک دور از انتظار نیست (رولدن رویز و همکاران 2001). گزارش های متناقضی در زمینه وجود یا عدم وجود تطابق بین نتایج حاصل از نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی وجود دارد. اسکات و همکاران (1997) با مطالعه ژنوتیپ های جو بر اساس برخی صفات ریخت شناسی و نشانگر AFLP، عدم وجود ارتباط معنی دار بین ماتریس های تشابه صفات ریخت شناسی و نشانگر مولکولی را گزارش نمودند.

منابع مورد استفاده

امام ی، 1386. تولید غلات. انتشارات دانشگاه شیراز. 190ص.

بی نام، 1388. نتایج طرح آمارگیری نمونه ای گندم و جو. دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، ص 50.

طوسی مجرد م و قنادها م ر 1385. ارزیابی پتانسیل عملکرد دانه و حرکت مجدد ماده خشک به دانه در ارقام تجاری گندم نان در دو شرایط نرمال و تنش خشکی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، صفحه های 326 تا 336.

Blum A, (1999). Improving wheat grain filling under stress by stem reserves mobilization. *Euphytica* 100: 77-83.

- Bohn M, Utz, HF and Melchinger AE, (1999). Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs, and SSRs and their use for predicting progeny variance. *Crop Sci* 39: 228-237.
- Briggs DE, (1978). The origin and classification of barleys in barley. Chapman and Hall, London, Halsted press P: 76-88.
- Chen HB, Martin JM, Lavin M and Talbert LE, (1994). Genetic diversity in hard red spring wheat based on sequence-Tagged site PCR markers. *Crop Sci* 34: 1628-1632.
- Courtois B, McLaren G, Sinha PK, Prasad K, Yadav R and Shen L, (2000). Mapping QTL associated with drought avoidance in upland rice. *Mol Breed* 6: 55-66.
- Dice LR, (1945). Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26: 297-302.
- Farshadfar M, (1995). Transfer of alien genes from wild species in to cultivated wheat. PHD thesis, Hangarian academy of sciences, Hungry.
- Fischer RA and Maurer R, (1978). Drought tolerance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Aust J Agric Res* 29: 897-912.
- Gallagher JN, Biscoe PV and Scot RK, (1975). Barley and its environment. V. Stability of grain weight. *J Appl Ecol* 12: 319-336.
- Garcia del Moral LF, Ramos JM, Garcia del Moral M.B and Jimenez-Tejada, P. (1991). Ontogenetic approach to grain production in spring barley based on path-coefficient analysis. *Crop Science* 31: 1179-1185.
- Gent MPN and Kiyomoto RK, (1989). Assimilation and distribution of photosynthesis in winter wheat cultivars differing in harvest Index. *Crop Sci* 29: 105-125.
- Hartl L, Mohler V, Zeller FJ, Hsam SLK and Schweizer G, (1999). Identification of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes *pm1c* and *pm4a* in common wheat (*Triticum aestivum*). *Genome* 42: 322-329.
- Hazen SP, Pathen MS, Sanchez A, Baxter I, Dunn M, Estes B, Chang HS, Zhu T, Kreps JA and Nguyen H, (2005). Expression profiling of rice segregating for drought tolerance QTLs using a rice genome array. *Funct Integ Genomics* 5: 104-116.
- Hong Q, Hou L, Luo XY, Li D, Xiao Y, Pei Y, Yang K and Jia C, (2001). Using RAPD for evaluating genetic background among naked barley varieties in Sishuan northwestern region. *Scientia Agricultura Sinica* 3: 133-138.
- Ito Y, Katsura K, Maruyama K, Taji T, Kobayashi M, Seki M, Shinozaki K and Yamaguchi-Shinozaki K, (2006). Functional Analysis of Rice DREB1/CBF-type Transcription Factors Involved in Cold-responsive Gene Expression in Transgenic Rice. *Plant and Cell Physiol* 47: 141-153.
- Kochieva EZ, Goryunova SV and Pomortsev AA, (2001). Rapd analysis of the genomic in species of the genus *Hordeum*. *Genetika Moskova* 37: 1088-1094.

- Kraich J, Zakova M and Gregova M, (1998). Comparison of differentiation capability of RAPD and SSR marker in commercial barley cultivars. *Cereal Research Communications* 26: 375-382.
- Kroth MA, Ramella MS, Tagliari C, de Francisco A and Arisi ACM, (2005). Genetic similarity of Brazilian hulless and malting barley varieties evaluated by RAPD markers . *Scientia Agricola* 62: 36-39.
- Li M, Guo W, Hu L, Liu X, Zhang Y, Wu R, Gong L, Zhang Z and Liu Bm (2007). Genetic variation in natural populations of *Hordeum Brevisudulatum* native to the songnen prairie in northeastern china: Comparison of four nuclear DNA: markers. *Canadian Journal of Plant Science* 87(4) 773-780.
- Muminovic J, Melchinger AE and Lubberstedt T, (2004). Genetic diversity in cornsalad (*Valerianella locusta*) and related species as determined by AFLP markers. *Plant Breeding* 123: 460-466.
- Nei M and Li WH, (1979). Mathematical model for studing genetic variation in terms of restriction endonuclease. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 5269-5273.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S and Refalski A, (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed* 2: 225-238.
- Rao NK, (2004). Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African J Biotech* 3: 136-145.
- Reddy MP, Sarla M, and Siddiq EA, (2002). Inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9-17.
- Roldan-Ruiz FA, Gilliland TJ, Dubreuil P, Dillmann C and Lallemand J, (2001). A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne L.*) varieties. *Theor Appl Genet* 103: 1138-1150.
- Saghai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:8014-8018.
- Schut JW, Qi X and Stem P, (1997). Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. *Theor Appl Genet* 95: 1161-1168.
- Selbach A and Molina SC, (2000). RAPD characterization of Brazilian barley. *Euphytica* 111: 127-135.
- Shi YT, Bian HW, Han N, Pan JW, Tong WX and Zhu MY, (2004). Genetic variation analysis by RAPD of some barley cultivars in china. *Acta Agronomica Sinica* 30: 256-265.
- Simane BP, Struik C, Nachit MM, Peacock JM, (1993). Ontogenic analysis of yield components and yield stability of durum wheat in water0limited environments. *Euphytica* 71: 211-219.
- Vansanford DA, .Mackown CT, (1987). Cultivar differences in nitrogen remobilization during grain filling in soft red winter wheat. *Crop Sci* 27: 295-300.

- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans DL, Theovan M, Hornes M, Frijers A, Kuiper M and Zabeau M, (1995). AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Res* 23: 4407-4414.
- Welsh J and Mc Clelland M, (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18: 7213-7218.
- Yamaguchi-Shinozaki K, (2005). Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress responsive promoters. *Trends Plant Sci* 10: 88-94.
- Zabeau M and Vos P, (1993). Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprints. *European Patent Application, Publ. 0534858A1*.
- Zhu J, Gale MD, Quarrie S, Jackson MT and Bryan GJ, (1998). AFLP markers for the study of rice biodiversity. *TAG* 96: 602-611.