

## بررسی وراثت پذیری صفات مورفولوژی و تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی و ریخت‌شناسی در ژنوتیپ‌های جو دیم

رضا میردریکوند\*

استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم‌آباد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۲۴)

### چکیده

شناسایی تنوع ژنتیکی و استفاده از آن در موفقیت برنامه‌های به‌نژادی، امری ضروری است. در این تحقیق تنوع ژنتیکی ۲۰ ژنوتیپ جو دیم با استفاده از صفات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی RAPD و ISJ بررسی شد. ژنوتیپ‌ها از نظر همه صفات ظاهری مورد بررسی اختلاف معنی‌دار داشتند که این موضوع بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بین آنها بود. محاسبه وراثت‌پذیری عمومی برای صفات نشان داد که صفت طول سنبله بیشترین و عملکرد دانه کمترین وراثت‌پذیری را داشتند. کمترین و بیشترین ضریب تغییرات ژنوتیپی و فتوتیپی به ترتیب برای صفات وزن هزار دانه و تعداد دانه در سنبله برآورد گردید. میانگین درصد چندشکلی آغازگرهای ISJ بیشتر از چندشکلی مشاهده شده در بین آغازگرهای RAPD بود. تجزیه‌ی خوشه‌ای نشان داد که تفکیک ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات ظاهری با تفکیکی که با استفاده از داده‌های مولکولی بدست آمد، مشابهت چندانی ندارند، اما تفکیک بر اساس داده‌های مولکولی RAPD و ISJ تا حدودی توانست ژنوتیپ‌های دو ردیفه و شش ردیفه، همچنین ژنوتیپ‌های دانه پوشیده و بدون پوشینه را از هم تفکیک نماید. بین ماتریس تشابه داده‌های مولکولی و صفات ظاهری همبستگی منفی و معنی‌دار، ولی بین ماتریس تشابه داده‌های مولکولی همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت.

واژگان کلیدی: جو دیم، تنوع ژنتیکی، نشانگر مولکولی، وراثت‌پذیری

\* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: [mirderikvand@khoiau.ac.ir](mailto:mirderikvand@khoiau.ac.ir)

## مقدمه

جو یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی می‌باشد که توسط انسان، اهلی شده و در نقاطی از خاور نزدیک که کاشهای باستانشناسی صورت گرفته همیشه با گندم دیده شده است. خاستگاه جوها چند ردیفه در آسیای شرقی، غرب چین، تبت تا شمال شرقی هندوستان بوده است. سایر نواحی که تصور می‌شود جو از آنها منشأ گرفته باشد، آسیای میانه عمدتاً قفقاز، سوریه و نواحی هم مرز آنها است. در این مناطق اجداد جوهای دو ردیفه‌ای یافت می‌شود که از هوردئوم اسپانتانئوم (*Hordeum spontaneum*) منشأ گرفته‌اند (Normohamadi et al., 2009).

فوتوپ هر گیاه ترکیبی از عوامل ژنتیکی و محیطی است. انتخاب و اصلاح ارقام گیاهی برای صفات مورد نظر همواره با مشکلاتی روبرو بوده و از مدت‌های طولانی متخصصین اصلاح‌نباتات در پی یافتن نشانگرهای ژنتیکی بوده‌اند که با صفات مورد نظر پیوستگی داشته باشند تا بدین ترتیب از آنها به‌عنوان معیار غیر مستقیمی در انتخاب ارقام استفاده نمایند. برای آنکه صفتی به عنوان نشانگر ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد باید حداقل از دو خصوصیت یعنی متفاوت بودن بین دو فرد (چند شکلی) و توارث برخوردار باشد. نشانگری در اصلاح نباتات مفید است که پیوستگی نزدیکی با ژن‌های مورد نظر داشته باشد، توارث پذیری آن بالا بوده و اندازه گیری آن آسان باشد (Vejdani, 1997). نشانگر ISJ نشانگری است که در آن از آغازگرهایی استفاده می‌شود که مکان آنها بر اساس نواحی برش اتصال اینترون- اگزون (ISJ) است. این نشانگرها توسط وینینگ و لانگریج (Weining and Langridge, 1991) برای انگشت نگاری DNA پیشنهاد شده است و جایگزین مناسبی برای نشانگر RAPD است. وینینگ و هنری (Weining and Henry, 1995) در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی ۵۰ ژنوتیپ از گونه جو وحشی (*H. spontaneum*) را که از نقاط مختلف دنیا جمع‌آوری شده بود با استفاده از آغازگرهای ISJ مورد بررسی قرار

دادند، اکثر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند و گروه مشترکی تشکیل دادند، ولی تنوع موجود بین نمونه‌های مورد بررسی همبستگی بسیار بالایی با توزیع جغرافیایی آنها داشت. استرل‌چنکو و همکاران (Strelchenko et al., 1999)، تفاوت‌های ژنتیکی ارقام جو را که از نقاط مختلف جهان جمع‌آوری شده بود با نشانگر RAPD بررسی نمودند و گزارش دادند که ارقام مورد مطالعه در سه گروه مجزا قرار می‌گیرند که این سه گروه با مکان جغرافیایی که در آن توزیع شده‌اند مرتبط است. منجونیته و همکاران (Manjunatha et al., 2007)، از صفات ظاهری و نشانگر RAPD برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی ۷۰ نمونه جو بومی مناطق هیمالیا استفاده کردند. آنها بر اساس صفات ظاهری گونه‌های متنوعی را شناسایی نمودند. تجزیه کلاستر بر اساس این صفات نمونه‌های جو دانه لخت و دانه پوشیده را بخوبی از هم تفکیک نمود. نشانگر RAPD به طور مؤثرتری جوهای دانه لخت را از دانه پوشیده تفکیک نمود. عشقی و آخوندوا (Eshghi and Akhundova, 2010)، تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو لخت را با استفاده از صفات زراعی- ظاهری، نشانگر RAPD و پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، بررسی نمودند. تجزیه کلاستر و تجزیه به مؤلفه‌ها بر اساس صفات زراعی- ظاهری ژنوتیپ‌ها را به طور مناسبی گروه‌بندی کرد. نتایج نشان داد که بر اساس ضریب تشابه جاکارد، ضریب تشابه بین ژنوتیپ‌ها از ۰/۲۲ تا ۰/۸۱ متغیر بود. بررسی تغییرات ژنتیکی با استفاده از پارامترهای مناسب ژنتیکی و وراثت‌پذیری برای اثر بخشی بیشتر برنامه‌های اصلاحی، ضروری است (Atta et al., 2008).

هدف از این تحقیق، بررسی وراثت‌پذیری، ضرایب تغییرات فنوتیپی، ژنوتیپی و تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو دیم با استفاده از دو نشانگر مولکولی RAPD، ISJ و صفات مورفولوژیک بود. طراحی آغازگرهای ISJ بر اساس توالی‌های حفاظت شده است و مکان اتصال بسیار اختصاصی را مورد هدف قرار می‌دهند. استفاده از این

(شماره ۹)، Bkfmaguelone1604/3/Apro//SV.02109،  
 Atahvalpa/5/Alger/Ceres، (شماره ۱۰)،  
 Alanda//SIS/3/ER/APM/4/W12197 (شماره ۱۴)،  
 Zafara/Athualpa/5/Lignee527/Chno1//GU/Store/4/  
 RHNO8/3/Deiallon/106/PL71/Strain205 (شماره  
 ۱۷) و Atahulpa/IPA99 (شماره ۱۹)، پوشینه‌دار بودند.  
 آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه  
 تکرار در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ اجرا گردید. در حین رشد  
 و بعد از برداشت صفات ارتفاع بوته، تعداد دانه در سنبله،  
 طول ریشک، طول سنبله، طول پدانکل، وزن هزار دانه و  
 عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند.  
 آزمایش‌های مولکولی: ابتدا از هر رقم تعداد ۲۰ بذر در  
 گلدان کشت گردید. برای جلوگیری از آلودگی احتمالی،  
 خاک گلدانها قبلاً به دقت بررسی شد تا عاری از وجود بذر  
 گیاهان مخصوصاً غلات باشد. بعد از اینکه گیاهان سبز  
 شدند، (پس از حدود ۱۴ روز) از هر نمونه تعدادی برگ  
 جمع‌آوری و سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند.  
 استخراج DNA به روش دلاپورتا و همکاران (Dellaporta  
*et al.*, 1993) انجام شد. به منظور حذف RNA از نمونه‌ها  
 با توجه به مشاهدات اولیه بر اساس ژل الکتروفورز، ۱  
 میکرولیتر آنزیم RNase (۱۰ mg/ml) برای هر نمونه  
 استفاده شد.

توالی‌ها می‌تواند مکانی برای اتصال آغازگرهای PCR باشد  
 که آغازگرهای نیمه تصادفی را بوجود می‌آورند.

### مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق ۲۰ ژنوتیپ جو دیم که از مرکز  
 تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان تهیه شده  
 بودند، مورد استفاده قرار گرفت. این ژنوتیپ‌ها شامل ۱۳  
 جو دو ردیفه بودند که از این تعداد ژنوتیپ‌های DD-  
 21/4/Aliso/ C130.9.2// Hb602/3/Nala/So/ya (شماره  
 ۳)، و DD-21 (شماره ۱۲) دانه لخت بود و ژنوتیپ‌های  
 ماهور (شماره ۱)، Viringas/3/h. Sponta.21-3/ Arar،  
 Atahualpa/Tarida، (شماره ۲)، 84/w12269/4h  
 W13159/6/Anca/2469/Toji/3/Shyri/4/Ataco/5/A، (۴)،  
 W131180/4/Aliso/C139.902//Hb602/3، (شماره ۵)،  
 Mol/Shy (شماره ۷)، Atahualpa/DD-21 (شماره ۸)،  
 BF891M-59//Acc#116131-Coi#8901-44-Gizo  
 Soufara-، (شماره ۱۳)، Atahulpa/Barque، (شماره ۱۵)،  
 o2/RM1508/POR/W12269/41/AML-O2/Arabi  
 Alger/Ceres/SIS/3/En، (شماره ۱۶)، Abiader/APM  
 2Hedarii2 و APM/4/W12197/Mazurka (شماره ۱۸)  
 /Ndbii2//Mora/5/B1-BAR//Mari (شماره ۲۰)، پوشینه  
 دار بودند. همچنین از ۷ ژنوتیپ شش ردیفه، ژنوتیپ  
 Petunia1/8/Post/Copal/5/Gloria (شماره ۱۱) دانه لخت  
 و ژنوتیپ‌های ایزه (شماره ۶)، Caimr/ F6NB2/Khomes

جدول ۱- مواد و غلظت نهایی برای انجام واکنش PCR نشانگرهای RAPD و ISJ

Table 1. Final concentrations of materials used for amplification of RAPD and ISJ markers

اجزاء واکنش Reaction component	غلظت محلول پایه Stocks solution conc.		غلظت نهایی Final concentrations		مقدار برای هر واکنش (میکرولیتر) Amount for each reaction(μl)	
	RAPD	ISJ	RAPD	ISJ	RAPD	ISJ
آب (ddH <sub>2</sub> O)	-	-	-	-	17	4.05
بافر Buffer	10 X	10 X	1 X	1 X	2.5	2
آغازگر Primer	10 Pmol/μl	20 Pmol/μl	0.4 Pmol/μl	1.33 Pmol/μl	1.25	1.25
dNTPs	10 mM	10 mM	0.2 mM	0.2 mM	0.5	0.5
Taq polymerase	5U/μl	5U/μl	1.25U/μl	1 U/μl	0.25	0.2
DNA	10 ng/μl	10 ng/μl	35ng/μl	35ng/μl	3.5	5
MgCl <sub>2</sub>	-	25 mM	-	2.5 mM	-	2
<b>جمع Total</b>					<b>25</b>	<b>15</b>

که ممکن است در نتیجه اثر محیط یا تفاوت‌های ژنتیکی آنها باشد.

وراثت پذیری درجه انتقال صفات یک گیاه به فرزندان را اندازه‌گیری می‌نماید. برآورد وراثت‌پذیری می‌تواند برای آگاهی از تأثیر میزان عوامل ژنتیکی و محیطی و نیز برآورد میزان بازده ژنتیکی در یک جمعیت به کار رود. میزان وراثت‌پذیری به مقدار تنوع ژنتیکی موجود، میزان اثرات محیطی و نوع صفت بستگی دارد. در این مطالعه پس از محاسبه‌ی قابلیت توارث عمومی مشخص شد که صفات طول سنبله و وزن هزار دانه به ترتیب با ۷۶٪ و ۷۴٪ دارای بیشترین، و صفات عملکرد دانه با ۴۳٪ دارای کمترین میزان وراثت‌پذیری عمومی بودند (جدول ۲). بالا بودن وراثت‌پذیری این دو صفت به علت بالا بودن واریانس ژنتیکی و کم بودن واریانس محیطی است.

مسعود و چودری (Masood and Chaudary, 1987) میزان وراثت‌پذیری عمومی ارتفاع بوته، تعداد پنجه در بوته، تعداد سنبله‌چه در سنبله، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزاردانه و عملکرد دانه را محاسبه کردند و مشاهده نمودند که مقدار آن برای عملکرد و اجزای آن بالاست. جلال (Jalal and Ahmad, 2012)، وراثت‌پذیری عمومی برای صفات تعداد دانه در سنبله و وزن هزار دانه بیش از ۹۸٪ گزارش داد.

دامنه‌ی ضریب تغییرات ژنوتیپی از ۷/۱۵ تا ۲۸/۸۵ درصد بود که کمترین مقدار آن مربوط به وزن هزار دانه و بیشترین آن مربوط به تعداد دانه در سنبله بود. دامنه‌ی ضریب تغییرات فنوتیپی از ۸/۲۹ تا ۳۵/۳۱ درصد بود که کمترین و بیشترین به ترتیب مربوط به صفت وزن هزار دانه و تعداد دانه در سنبله بود.

جلال (Jalal and Ahmad, 2012) در مطالعه‌ای در لاین‌های امید بخش جو ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی برای صفت وزن هزار دانه را به ترتیب ۱۵/۳۵ و ۱۴/۹۳ اعلام نمود. صفت وزن هزار دانه دارای کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی بود بنابراین صفت فوق در محل اجرای آزمایش تأثیرپذیری کمتری از محیط داشته است.

کیفیت DNA ژنومی با استفاده از ژل آگارز ۰/۸٪ و اسپکتروفتومتری تعیین شد. در این پژوهش از ۲۰ آغازگر تصادفی ۱۰ نوکلئوتیدی و ۲۰ آغازگر نیمه تصادفی استفاده شد (جدول ۳ و ۴). برای انجام واکنش‌های PCR با استفاده از آغازگرهای تصادفی و نیمه تصادفی محلول واکنش به ترتیب در حجم ۲۵ و ۱۵ میکرولیتر تهیه گردید (جدول ۱). پس از مراحل تکثیر توسط PCR، از ژل ۱/۵٪ آگارز با بافر TAE و دستگاه الکتروفورز با ولتاژ ۹۰ به مدت دو ساعت برای تفکیک قطعات تکثیر شده، استفاده گردید. رنگ آمیزی با استفاده از ماده رنگ‌آمیزی ژل رد<sup>۱</sup> صورت گرفت. مشاهده و عکسبرداری زیر نور UV به کمک دستگاه Gel Doc XR ساخت کمپانی BioRad انجام شد. برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های هر روش از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA<sup>۲</sup> استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc (Rohlf, 1992) انجام گردید.

**محاسبات آماری و تجزیه و تحلیل داده‌های صفات ظاهری:** تجزیه واریانس و محاسبات آماری صفات توسط نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 2002)، انجام شد. تجزیه خوشه‌ای برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های صفات ظاهری به روش Ward و با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. وراثت‌پذیری عمومی با استفاده از رابطه‌ی  $h^2 = \frac{\delta^2 g}{\delta^2 ph}$  (Falconer, 1989) ضریب تغییرات ژنتیکی با استفاده از رابطه‌ی  $G.C.V = \frac{\sqrt{V_G}}{\mu} * 100$  و ضریب تغییرات فنوتیپی با استفاده از  $P.C.V = \frac{\sqrt{V_P}}{\mu} * 100$  (Singh and Chaudhury, 1985) محاسبه شد.

## نتایج و بحث

تجزیه واریانس آماری صفات نشان داد که ژنوتیپ‌ها از نظر تمام صفات مورد مطالعه در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار داشتند. معنی‌دار بودن اثر صفات مورد ارزیابی بیانگر این است که بین ژنوتیپ‌ها از نظر این صفات تنوع وجود دارد به عبارت دیگر این ژنوتیپ‌ها در محل اجرای آزمایش بروز متفاوتی از نظر صفات مورد بررسی داشتند

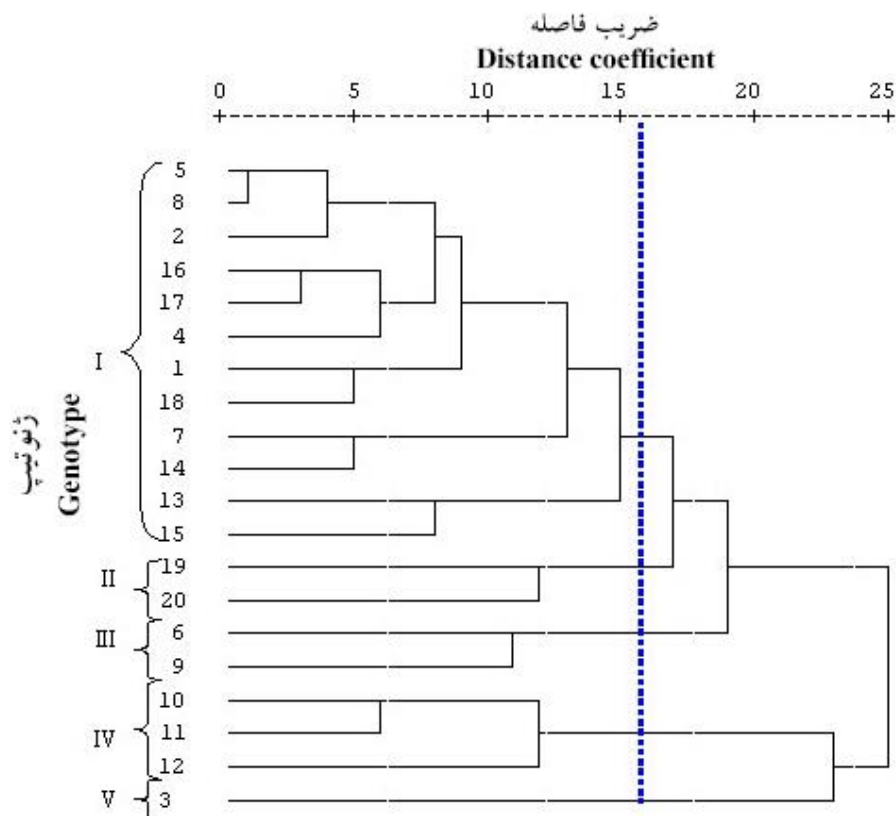
جدول ۲- میانگین، واریانس، ضرایب تغییرات و وراثت پذیری عمومی صفات ظاهری ژنوتیپ‌های جو دیم

Table 2. Mean, variance, coefficient of variability and broad sense heritability of morphological traits in rainfed barley genotypes.

وراثت پذیری Heritability in broad sense %	ضریب تغییرات		واریانس		میانگین Mean	صفات Traits
	Coefficient of variability		variance			
	ژنوتیپی Genotypic	فنوتیپی Phenotypic	ژنوتیپی Genotypic	فنوتیپی Phenotypic		
65	13.78	17.09	66.47	102.19	59.15	ارتفاع بوته Plant height (cm)
66	28.85	35.31	2256.66	3380.06	164.61	تعداد دانه در سنبله No. of grain per spike
73	12.77	14.90	2.93	4.01	13.41	طول ریشک Awn length (cm)
54	19.63	26.67	6.29	11.6	12.77	طول پدانکل Peduncle length (cm)
76	11.72	13.41	0.63	0.83	6.79	طول سنبله Spike length (cm)
74	7.15	8.29	11.16	15.03	46.71	وزن هزار دانه 1000-kernel weight (gr)
43	17.76	26.92	0.21	0.49	2.6	عملکرد دانه Grain yield (ton/ha)

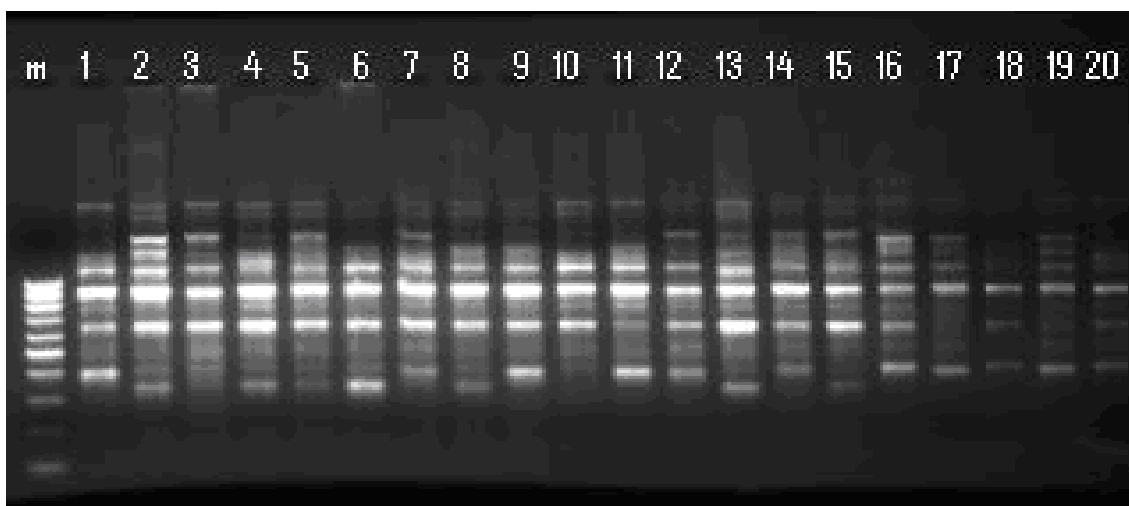
پیش‌بینی محل برش دندروگرام وجود دارد، که مهم‌ترین آنها برش دندروگرام با توجه به هدف تحقیق است (Samiey, 2003). در گروه اول دوازده ژنوتیپ قرار گرفته‌اند که به استثنای شماره ۱۷ بقیه جو دو ردیفه هستند. این ژنوتیپ‌ها اغلب عملکرد دانه بالایی دارند. گروه دوم شامل دو ژنوتیپ جو پوشینه‌دار است که عملکرد دانه پایینی دارند. در گروه سوم دو ژنوتیپ جو شش ردیفه قرار گرفته‌اند. در گروه چهارم دو ژنوتیپ و در گروه پنجم یک ژنوتیپ دانه لخت قرار گرفت. می‌توان نتیجه گرفت که تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات ظاهری تا حدودی توانسته ژنوتیپ‌های متفاوت جو را تفکیک نماید. گرچه صفات ظاهری از محیط تأثیر می‌گیرند ولی می‌توان از آنها در مطالعات تنوع ژنتیکی استفاده کرد. نتایج داده‌های نشانگر RAPD نشان داد که ۲۰ آغازگر مورد استفاده در مکان‌های تکثیر شده چند شکلی دارند (شکل ۲).

ژنوتیپی بود بنابراین صفت فوق در محل اجرای آزمایش تأثیرپذیری کمتری از محیط داشته است. در بین صفات مورد بررسی، صفت تعداد دانه در سنبله دارای ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی بیشتری بود، بنابراین تأثیر محیط بر صفات با ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی کم، از سایر صفات کمتر می‌باشد. ماتریس تشابه بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس صفات ظاهری با استفاده از فاصله اقلیدسی محاسبه شد، کمترین تشابه بین ژنوتیپ‌های شماره ۳ (دانه لخت) و ۱۶ (پوشینه‌دار) مشاهده شد. فاصله اقلیدسی بین این دو ژنوتیپ ۴۳/۳۲ بود. بیشترین تشابه (۱/۴۴) مربوط به ژنوتیپ‌های شماره ۵ و ۸ بود. این ژنوتیپ‌ها دو ردیفه هستند و تشابه زیادی به ویژه در مورد صفت عملکرد دانه با هم داشتند. بر اساس صفات ظاهری ژنوتیپ‌ها گروه‌بندی شدند (شکل ۱). اگر دندروگرام در فاصله‌ی ۱۶ قطع شود، ژنوتیپ‌ها در ۵ گروه عمده قرار می‌گیرند. روش‌های مختلفی جهت



شکل ۱- دندروگرام ژنوتیپ‌های جو دیم بر اساس صفات ظاهری با استفاده از روش Ward

Figure 1. Dendrogram of rainfed barley genotypes using ward method for morphological traits



شکل ۲- الگوی نواری ژنوتیپ‌های جو دیم با استفاده از آغازگر S39 (RAPD). M: سایز مارکر، ۱-۲۰: شماره ژنوتیپ‌های

جو.

Figure 2. Banding pattern of rainfed barley genotypes using S39 (RAPD) primer. M: 1Kb size marker and 1-20: barley genotypes.

تشابه بین ژنوتیپ‌های ۳ و ۱۱، ۳ و ۱۲، ۱۱ و ۱۲ که جو دانه لخت هستند به ترتیب برابر ۵۴، ۷۸ و ۵۶ درصد بود. یانگ و همکاران (Young et al., 2005)، تنوع ژنتیکی ۴۶ ژنوتیپ جو را با نشانگرهای RAPD و ISSR بررسی نمودند و چند شکلی بالایی در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده کردند. با استفاده از نشانگر RAPD از ۱۰۹ نوار تکثیر شده ۸۴ نوار چند شکلی نشان دادند (۰/۷۷/۰۶). دامنه شباهت ژنتیکی ژنوتیپ‌ها بر اساس نشانگر RAPD بین ۰/۹۸ تا ۰/۷۵ متغیر بود. نظری و پاک نیت (Nazari and Pakniyat, 2008) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو وحشی و زراعی با استفاده از نشانگر RAPD، دریافتند که این نشانگر جهت تعیین چند شکلی در بین نمونه‌های مورد بررسی، نشانگر مناسبی است. در مطالعه آنها ژنوتیپ‌های جو وحشی کمترین شباهت را با واریته والفجر داشتند، همچنین واریته‌های ریحان و کویر به ترتیب حداقل و حداکثر شباهت را با سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند.

از مجموع ۱۶۶ نوار تکثیر شده تعداد ۱۱۷ نوار چند شکلی نشان دادند. میانگین نوار تکثیر شده به ازای هر آغازگر ۸/۳ بود. بسته به نوع آغازگر تعداد نوار چند شکلی از ۱۰ نوار (آغازگرهای S134, S39, OPR3, OPU16) تا ۲ نوار (آغازگرهای OPB11, S32) متغیر بود (جدول ۳). در بین آغازگرها، آغازگرهای S134, S39, OPR3 و OPU16 تنوع بیشتری را شناسایی کرده و بیشترین درصد چندشکلی را نشان دادند. آغازگر OPB11 نیز کمترین درصد چند شکلی را نشان داد. میانگین درصد چند شکلی در این آغازگر ۶۹/۰۱ درصد بود. ضرایب تشابه محاسبه شده بر اساس داده‌های نشانگر RAPD، مشخص نمود که ارزش‌های تشابه بین جفت ژنوتیپ‌ها دامنه‌ای از ۴۴ تا ۹۰ درصد را دارند. میانگین تشابه ژنوتیپ‌ها ۰/۳۸ بود. کمترین تشابه ژنتیکی (۰/۴۴) بین ژنوتیپ‌های ۱۲ (دو ردیفه و دانه لخت) و ۱۸ (دو ردیفه و پوشینه دار) و بیشترین شباهت (۰/۹۳) بین ژنوتیپ‌های ۵ و ۷ مشاهده شد (دو ژنوتیپ دو ردیفه و پوشینه‌دار هستند). ضریب

جدول ۳- مقایسه‌ی آغازگرهای RAPD از نظر چند شکلی در ژنوتیپ‌های جو مورد مطالعه

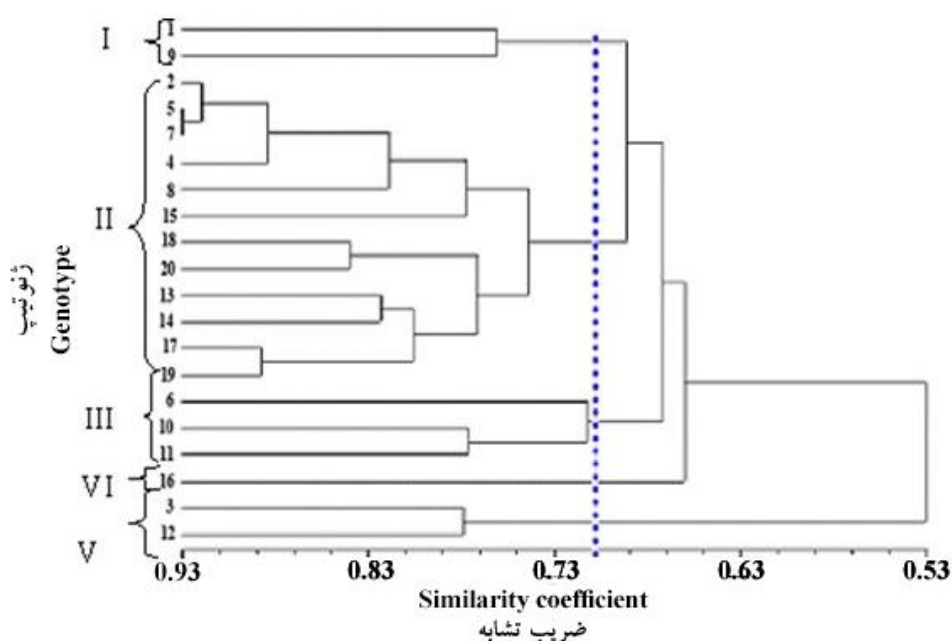
Table 3. Comparison of RAPD primers polymorphism in studied barley genotypes.

ردیف No	آغازگر Primer	تعداد نوارهای تکثیر شده No. of amplified bands	تعداد نوارهای چند شکلی No. of polymorphic bands	درصد چند شکلی Polymorphic percentage
1	OPA01	12	8	66.67
2	S134	12	10	83.33
3	S39	12	10	83.33
4	OPC20	11	7	63.64
5	OPR3	10	10	100
6	OPU16	10	10	100
7	OPG13	9	3	33.33
8	OPB01	9	3	33.33
9	OPF14	9	6	66.67
10	OPL08	9	9	100
11	OPF04	8	5	62.50
12	OPB10	7	3	42.86
13	OPB12	7	6	85.71
14	OPL16	7	7	100
15	OPB11	7	2	25.57
16	S29	6	5	83.33
17	S18	6	3	50
18	OPB20	5	5	100
19	SC1091	5	3	60
20	S32	5	2	40
جمع کل Total		166	117	Mean = 69.01

گروه قرار گرفتند. نتایج نشان می‌دهد که این نشانگر توانسته تعدادی از جوهای دو ردیفه را از شش ردیفه تفکیک نماید. با توجه به اینکه ژنوتیپ‌های شماره ۱۱، ۱۲ و ۳ دانه لخت هستند، گروه‌بندی بر اساس نشانگر توانسته ژنوتیپ‌های ۳ و ۱۲ را به خوبی از سایر ژنوتیپ‌ها تفکیک نماید. بطور کلی این نشانگر توانسته است که تمام ژنوتیپ‌های دو ردیفه و شش ردیفه و همچنین ژنوتیپ‌های دانه لخت و دانه پوشیده را از هم تفکیک نماید.

در این تحقیق از ۲۰ آغازگر نیمه تصادفی ۱۰ تا ۱۸ نوکلئوتیدی در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز استفاده گردید، این آغازگرها شامل دو دسته مکان هدف اگزون (ET) و مکان هدف اینترون (IT) بودند. در مجموع ۱۳۳ نوار تولید نمودند که از این تعداد ۸۹ نوار چند شکل بودند (۶۶/۹۱ درصد). بیشترین تعداد نوار چند شکل متعلق به آغازگرهای IT10-1 و IT10-3 با ۷ نوار و

بر اساس ماتریس تشابه به دست آمده، برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، دندروگرام با استفاده از روش UPGMA ترسیم گردید (شکل ۳). با قطع دندروگرام در نقطه ۷۱ درصد، ۵ گروه اصلی به دست آمد که به صورت زیر می‌باشند. گروه اول: شامل ژنوتیپ‌های شماره ۹ و ۱۰ با ۷۶ درصد تشابه است. گروه دوم: شامل ژنوتیپ‌های ۱۹، ۲۰، ۱۸، ۱۷، ۱۵، ۱۴، ۱۳، ۸، ۷، ۵، ۴ و ۲ می‌باشد و در این گروه بیشترین شباهت بین ژنوتیپ‌های شماره ۵ و ۷ (۰/۹۳) که جو دو ردیفه هستند، وجود داشت. گروه سوم: شامل ژنوتیپ‌های شماره ۱۰، ۱۱، ۶ می‌باشد. این ژنوتیپ‌ها همگی شش ردیفه هستند دو ژنوتیپ ۱۱ و ۱۰ تشابه بیشتری داشتند (۰/۷۸). در گروه چهارم فقط ژنوتیپ شماره ۱۶ قرار گرفته است، و این ژنوتیپ بیشترین تشابه را با ژنوتیپ شماره ۱۳ داشت (۰/۷۶)، که هر دو ژنوتیپ جزو جوهای دو ردیفه هستند. در گروه پنجم دو ژنوتیپ شماره ۱۲ و ۳ که دانه لخت هستند با ۰/۷۸ تشابه در این



شکل ۳- دندروگرام ژنوتیپ‌های جو دیم (بر اساس داده‌های نشانگر RAPD) با استفاده از روش UPGMA و بر اساس ضریب تشابه جاکارد

Figure 3. Dendrogram of rainfed barley genotypes using UPGMA method based on Jaccard's coefficient for RAPD data.



(شکل ۴) که به صورت زیر می‌باشند. گروه اول: شامل ژنوتیپ‌های شماره ۱ و ۹ با ۶۹ درصد تشابه است. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های ۱۹، ۱۸، ۱۷، ۱۶، ۱۵، ۱۴، ۱۳، ۱۱، ۱۰، ۸، ۷، ۵، ۴ و ۲ می‌باشد، که به غیر از ژنوتیپ‌های ۱۰، ۱۱، ۱۴، ۱۷ و ۱۹ که شش ردیفه هستند، سایر ژنوتیپ‌های این گروه دو ردیفه هستند. بنابراین اکثر جوه‌های دو ردیفه در این گروه قرار گرفته‌اند. در گروه سوم فقط ژنوتیپ شماره ۶ که پوشینه‌دار و شش ردیفه است، قرار دارد. در گروه چهارم هم فقط ژنوتیپ شماره ۲۰ قرار گرفته است. گروه پنجم: دو ژنوتیپ شماره ۱۲ و ۳ که دانه لخت هستند با ۰/۷۸ تشابه در این گروه قرار گرفتند (مشابه نشانگر RAPD).

با توجه به فواصل ژنتیکی به دست آمده می‌توان در برنامه‌های اصلاحی مخصوصاً در انتخاب والدین برای تلاقی‌های مفید از این فواصل استفاده نمود. این نشانگر نیز همانند نشانگر RAPD ژنوتیپ‌ها را بطور نسبی تفکیک نموده است. مقایسه بین گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های صفات ظاهری و نشانگر RAPD نشان می‌دهد که دندروگرام این دو گروه‌بندی تشابهات و تفاوت‌هایی با هم دارند (اشکال ۱ و ۳). از موارد تشابه این است که، در دو گروه‌بندی از ۳ ژنوتیپ پوشینه‌دار ۲ ژنوتیپ در یک گروه قرار گرفته‌اند. همچنین برخی ژنوتیپ‌های دو ردیفه طبق دو روش گروه‌بندی در یک گروه قرار گرفتند. در سایر موارد گروه‌بندی در دو دندروگرام متفاوت است. بین دو ماتریس تشابه همبستگی منفی و معنی دار وجود دارد (\*\*/۰/۴۹-)، که نشان می‌دهد تشابه بدست آمده در صفات ظاهری با تشابه بر اساس نشانگر RAPD با هم تطابق ندارد. نولی و همکاران (Noli et al., 1997)، در مطالعه تنوع ژنتیکی ارقام جو با استفاده از نشانگرهای RAPD و RFLP مشاهده کردند که دندروگرام حاصل از این دو نشانگر با هم متفاوتند. بوستوس و همکاران (Bustos et al., 1998)، با استفاده از نشانگر RAPD تنوع ارقام جو را بررسی کرده و نتیجه گرفتند که این نشانگر ارقام مورد

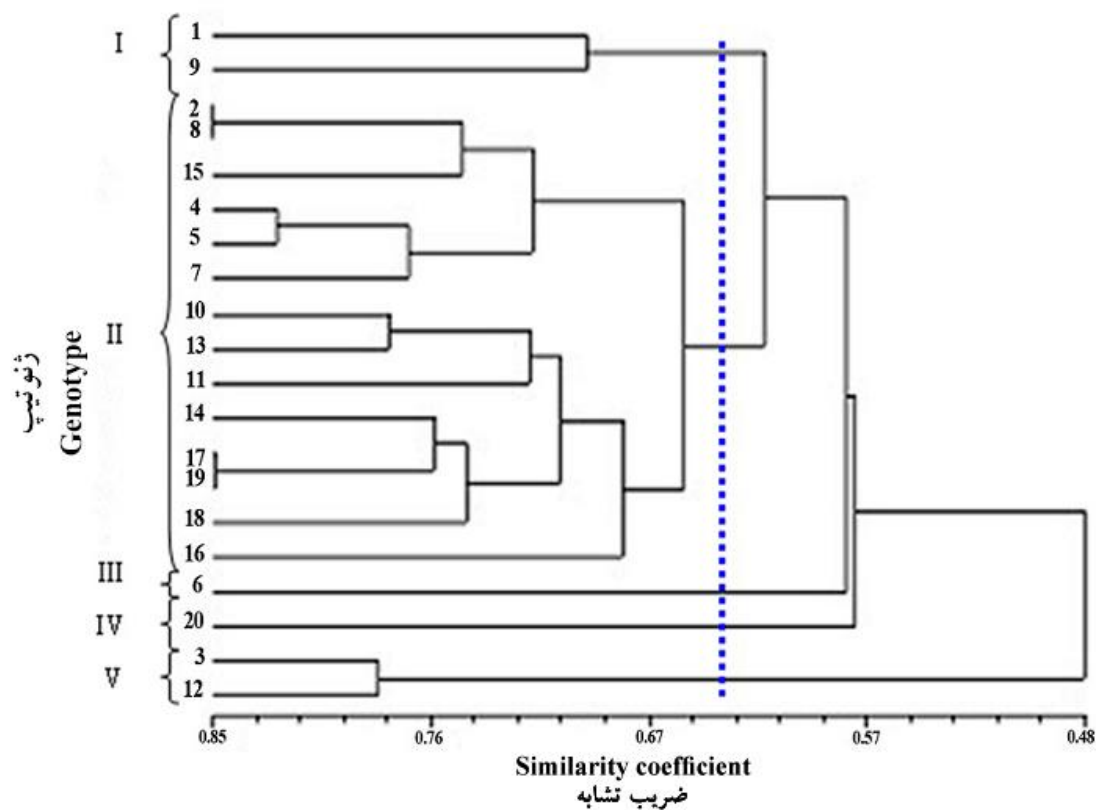
کمترین نوار چند شکل متعلق به آغازگر ET26-12 با ۲ نوار بود. متوسط تعداد نوار به ازای هر آغازگر ۶/۸ عدد بود. میانگین درصد چند شکلی در این آغازگر ۷۱/۲۹ بود که از درصد چند شکلی در آغازگر RAPD، بیشتر است. (جدول ۴). درویشیان و همکاران (Darvishian et al., 2016) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم با استفاده از ۳۰ نشانگر ISJ، متوسط تعداد نوار توسط هر آغازگر را ۴/۳ نوار گزارش دادند. همچنین میانگین ضریب تشابه بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را ۰/۶۴ اعلام نمودند. رافالسکی و همکاران (Rafalski et al., 2002) با استفاده از نشانگرهای نیمه تصادفی در ژنوتیپ‌های چاودار متوسط تعداد نوار تولید شده به ازای هریک از ژنوتیپ‌ها را ۸/۹ برآورد نمودند. سمیعی (Samiey, 2003) در بررسی خود در ژنوتیپ‌های شبدر با استفاده از همین نشانگرها متوسط تعداد نوار برای هر آغازگر را ۱۱/۱ برآورد نمود. آغازگرهای IT در مقایسه با آغازگرهای ET نوارهای چند شکل و با وضوح بالاتری ایجاد نمودند. این نتیجه با نتایج وهابی و همکاران (Vahabi et al., 2008) در مورد گیاه اسفرزه مطابقت می‌نماید.

ماتریس تشابه بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس داده‌های این نشانگر با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA تشکیل گردید، ارزش‌های تشابه بین جفت ژنوتیپ‌ها دامنه‌ای از ۴۲ تا ۸۵ درصد داشتند. میانگین تشابه ژنوتیپ‌ها ۰/۶۱ بود. کمترین تشابه ژنتیکی (۰/۴۲) بین ژنوتیپ‌های ۱۲ (دانه لخت) و ۱۸ (پوشینه‌دار) و بیشترین شباهت (۰/۸۵) بین ژنوتیپ‌های ۲ و ۸ مشاهده شد (دو ژنوتیپ، پوشینه‌دار و دو ردیفه هستند). ضریب تشابه بین ژنوتیپ‌های ۳ و ۱۱، ۳ و ۱۲، ۱۱ و ۱۲ که جو دانه لخت هستند به ترتیب برابر ۵۴، ۷۸ و ۵۶ درصد بود که مشابه ضریب تشابه بین این ژنوتیپ‌ها در نشانگر RAPD است. ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های نشانگر ISJ و با استفاده از روش UPGMA گروه‌بندی شدند. با قطع دندروگرام در نقطه ۷۰ درصد، ۵ گروه اصلی به دست آمد

جدول ۴- مقایسه‌ی آغازگرهای ISJ از نظر چند شکلی در ژنوتیپهای جو مورد مطالعه

Table 4. Comparison of ISJ primers polymorphism in studied barley genotypes.

ردیف No	آغازگر Primer	تعداد نوارهای	تعداد نوارهای	درصد چند شکلی
		تکثیر شده No. of amplified band	چند شکل No. of polymorphic band	Polymorphic percentage
1	IT10/1	10	7	60
2	IT10/3	9	7	77.78
3	IT10/2	9	6	66.67
4	ET4/18	9	6	66.67
5	ET28/12	9	6	66.67
6	IT35/15	9	5	55.56
7	ET29/12	9	3	33.33
8	ET26/12	9	2	22.22
9	IT10/4	8	6	75
10	IT10/5	7	6	85.71
11	ET2/18	7	3	42.86
12	ET30/12	6	5	83.33
13	ET10/18	5	5	100
14	IT10/6	5	4	80
15	IT34/15	5	3	60
16	ET35/15	4	3	75
17	IT36/15	4	3	75
18	ET31/15	3	3	100
19	ET27/12	3	3	100
20	IT31/15	3	3	100
جمع کل Ttotal		133	89	Mean = 71.29



شکل ۴- دندروگرام ژنوتیپهای جو دیم بر اساس داده‌های نشانگر ISJ با استفاده از روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد

Figure 4. Dendrogram of rainfed barley genotypes using UPGMA method based on Jaccard's coefficient for ISJ data

مقایسه بین گروه‌بندی بر اساس دو نشانگر مولکولی RAPD و ISJ بیانگر آن است که دندروگرام این دو گروه‌بندی مشابهت زیادی با هم دارند (شکل‌های ۳ و ۴). در دو دندروگرام ژنوتیپ‌های شماره ۹ و ۱ همچنین ژنوتیپ‌های شماره ۱۲ و ۳ (بدون پوشینه) در یک خوشه قرار گرفته‌اند. همچنین اغلب ژنوتیپ‌های پوشینه دار و دو ردیفه در یک خوشه قرار گرفته‌اند. بین ماتریس تشابه داده‌های مولکولی همبستگی مثبت و معنی دار وجود داشت (\*\*۰/۸۷). یانگ و همکاران (Young et al., 2005) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو با استفاده از نشانگرهای RAPD و ISSR بین ماتریس دو سری داده همبستگی ضعیف و غیر معنی دار مشاهده کردند. به نظر می‌رسد در گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه دو نشانگر RAPD و ISJ تقریباً مشابه هم عمل کرده‌اند. از دلایل این موضوع می‌توان به این اشاره کرد که آغازگرهای دو نشانگر در واکنش‌های PCR نواحی مشابهی از ژنوم را تکثیر کرده و الگوی نوار بندی مشابهی را ارائه نموده‌اند. گرچه نشانگرهای ISJ نیمه تصادفی هستند و انتظار می‌رود الگویی متفاوت با نشانگر RAPD داشته باشند ولی در مطالعه حاضر بین گروه‌بندی این دو نشانگر تفاوت قابل ملاحظه‌ای دیده نمی‌شود و نشانگر ISJ برتری نسبت به نشانگر RAPD نداشت. در نهایت، با توجه به اینکه گروه‌بندی بر اساس داده‌های دو نشانگر مولکولی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی مشابه بود بنابراین در مطالعات مشابه می‌توان تنها از یکی از دو نشانگر فوق استفاده کرد. بر اساس سه روش مطالعه تنوع ژنتیکی، بین ژنوتیپ‌ها فاصله‌ی ژنتیکی مشاهده شد، که می‌توان از این تنوع و فواصل ژنتیکی در اصلاح جو استفاده نمود. بنابراین با توجه به اهداف اصلاحی چنانچه هدف پیشبرد صفات از طریق دورگیری باشد، می‌توان تلافی‌های مناسب بین ژنوتیپ‌هایی که در فواصل دورتری از هم قرار دارند، انجام داد. پیشنهاد می‌شود جهت بررسی‌های بیشتر ژنوتیپ‌ها با نشانگرهای مولکولی دیگری مانند SNP، SSR و AFLP مورد ارزیابی قرار گیرند. همانطور که نتایج نشان دادند،

مطالعه را بخوبی از هم تفکیک می‌نماید ولی در مطالعه حاضر این نشانگر نتوانسته ژنوتیپ‌ها را بخوبی از هم تفکیک نماید. وهابی و همکاران (Vahabi et al., 2008) در گیاه اسفرزه گروه‌بندی بر اساس صفات ظاهری و نشانگر RAPD را انجام دادند و مشاهده کردند که این دو گروه‌بندی تشابه زیادی با هم ندارند. بطورکلی دو گروه‌بندی فوق با هم کاملاً مطابقت ندارند. از دلایل این موضوع می‌تواند این باشد که؛ چون آغازگرهای نشانگر RAPD بصورت تصادفی قسمت‌هایی از ژنوم را تکثیر می‌کنند و این قسمت‌ها ممکن است در ژنوتیپ‌ها متفاوت باشند بنابراین ژنوتیپ‌ها بر این اساس در گروه‌های متفاوتی قرار می‌گیرند. از طرفی ممکن است قسمتی از ژنوم ژنوتیپ‌ها که با استفاده از آغازگرهای تصادفی تکثیر شده در بروز صفات ظاهری نقش نداشته باشد. در مواردی که گروه‌بندی در دو روش مشابه است ممکن است به این دلیل باشد که تنوع ظاهری نیز اساس مولکولی دارد. Semagn (2002) دو دلیل را برای وجود همبستگی پایین بین داده‌های نشانگرهای مولکولی DNA و صفات ظاهری بیان داشت: ۱) نشانگرهای DNA نسبت به صفات ظاهری قسمت زیادی از ژنوم که در برگیرنده نواحی رمزکننده و غیر رمزکننده است را شامل می‌شوند ۲) نشانگرهای مولکولی در مقایسه با صفات ظاهری کمتر تحت تاثیر انتخاب طبیعی قرار می‌گیرند. مقایسه بین گروه‌بندی بر اساس داده‌های ظاهری و نشانگر ISJ تقریباً مشابه مقایسه صفات ظاهری و نشانگر RAPD بود (شکل‌های ۱ و ۴). در این دندروگرام نیز اغلب ژنوتیپ‌های دانه پوشیده و دو ردیفه در یک گروه قرار گرفته‌اند که در این مورد دو دندروگرام مشابهت دارند ولی در سایر موارد دو دندروگرام متفاوتند. بین دو ماتریس تشابه همبستگی منفی و معنی دار وجود دارد (\*\*۰/۴۱). وهابی و همکاران (Vahabi et al., 2008) در گیاه اسفرزه بین دندروگرام حاصل از داده‌های صفات ظاهری و نشانگر ISJ ارتباطی پیدا نکردند.

ژنوتیپ‌ها انجام خواهد شد، مدنظر قرار گیرد. صفاتی که از ضرایب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی پایینی برخوردار بودند (وزن هزار دانه و طول سنبله) وراثت پذیری بالایی داشتند. صفات با وراثت‌پذیری بالا می‌توانند بعنوان معیار انتخاب ژنوتیپ‌های جو در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گیرند.

بیشترین میزان وراثت‌پذیری عمومی مربوط به طول سنبله می‌باشد، یعنی درجه‌ی انتقال این صفت در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بالا می‌باشد، از طرف دیگر صفت عملکرد دانه دارای کمترین میزان وراثت‌پذیری عمومی می‌باشد، بنابراین درجه‌ی انتقال این صفت به نتاج پایین است. این موضوع می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی بعدی که در مورد این

## References

- Atta, B.M., Haq, M.A. and Shah, T.M.** (2008). Variation and inter relationships of quantitative traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Pakistan Journal of Botany*, **40** (2): 637-647.
- Bustos, A.D., Casnova, C., Soler, G. and Jouve, N.** (1998). RAPD variation in wild populations of four species of the genus *Hordeum* (*Poaceae*). *Theoretical and Applied Genetics*, **96**: 101-111.
- Darvishian, A., Ismaili, A., Nazarian-Firouzabadi, F., Mir Drikvand, R. and Hosseinpour, T.** (2016). Assessment of genetic diversity among wheat genotypes of west Iran, using randomized markers. *Journal of Plant Genetic Research*, **2**: 47-56 (In Persian)
- Dellaporta, S.L., wood, J. and Tiks, J.B.** (1993). A plant molecular DNA miniprep: Vevsion 2. *Plant Molecular Biology Reporter*, **1**: 19-21.
- Eshghi, R. and Akhundova, E.** (2010). Genetic diversity in hullless barley based on agromorphological traits and RAPD markers and comparison with storage protein analysis. *African Journal of Agriculture Research*, **5**(1): 97-107.
- Falconer, D.S.** (1989). *Introduction to quantitative genetics*. (3rd Ed) Logman Scientific and Technical, Logman House, Burnt Mill, Harlow, Essex, UK.
- Jalal, A.A.T. and Ahmad, H.A.F.** (2012). Genetic variation, heritability, phenotypic and genotypic correlation studies for yield and yield components in promising barley genotypes. *Journal of Agricultural Science*. **4**(3): 193-210.
- Manjunatha, T., Bisht, I.S. Bhat, K.V. and Singh, B.P.** (2007). Genetic diversity in barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces from Uttaranchal Himalaya of India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **54**: 55-65.
- Masood, M.S., Chaudary, A.R.** (1987). Heritability estimates and genetic advance values of some agronomic characters involving exotic and indigenous wheat varieties. *Pakistan Journal of Agriculture Research*, **8**: 7-11.
- Nazari, L. and Pakniyat, H.** (2008). Genetic diversity of wild and cultivated barley genotypes under drought stress using RAPD markers. *Biotechnology*, **7**(4): 745-750.
- Noli, E., Salvi, S and Tuberosa, R.** (1997). Comparative analysis of genetic relationships in barley based on RFLP and RAPD markers. *Genome*, **40**: 607-616.
- Normohamadi, Gh., Siyadat, A. and Kashani, A.** (2009). *Agronomy of cereal crops*. Publication of Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran (In Persian).
- Rafalski, A., Madej, L., Wisniewska, I. and Gawelo, M.** (2002). The genetic diversity of components of Rye hybrids. *Cellular and Molecular Biology Letters*, **7**: 471-475.
- Rohlf, F.J.** (1992). *NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Exeter Software. New York, USA.
- Samiey, K.** (2003). Evaluation of genetic variation in clover (*Trifolium resupinatum* L.) using molecular and morphological markers. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran (In Persian).
- SAS Institute.** (2002). *SAS user's guide: Statistics version 9 for windows*. SAS Institute., Carry, NC, USA.
- Semagn, K.** (2002). Genetic relationships among ten endod types as revealed by a combination of morphological, RAPD and AFLP markers. *Hereditas*, **137**: 149-156.
- Singh, R.K. and Chaudhary, B.D.** (1985). *Biometrical Methods in Quantitative Analysis*. kalayani Publishers. New Delhi, IN.
- Strelchenko, P., Kovalyova, O. and Okuno, K.** (1999). Genetic differentiation and distribution of barley germplasm based on RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **46**: 193-205.

- Vahabi, A.A., Lotfi, A., Solouki, A. and Bahrami, S.** (2008). Molecular and morphological markers for the evaluation of diversity between *Plantago ovata* in Iran. *Biotechnology*, **7(4)**: 702-708.
- Vejdani, P.** (1997). Important of methods of conservation of plant genetic resources. 4<sup>th</sup>Iranian crop science congress, Isfahan University of Tecnology, Isfahan, Iran.
- Weining, S. and Langridge, P.** (1991). Identification and mapping of polymorphism in cereals and the polymerase chain reaction. *Theoretical and Applied Genetics*, **82**: 209-216
- Weining, S. and Henry, R.J.** (1995). Molecular analysis of the DNA polymorphism of wild barley (*Hordeum spontaneum*) germplasm using the polymerase chain reaction. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **42**: 273-281.
- Young, C.H., Ze-Hong, Y., Yu-Ming, W. and You-Liang, Z.** (2005). Genetic diversity in barley from vest china based on RAPD and ISSR analysis. *Barley News Letter*, **35**: 9-22.

## Investigation of Heritability of Morphological Traits and Genetic Diversity among Rainfed Barley Genotypes Using Molecular and Morphological Markers

Reza Mir Drikvand\*

Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran

(Received: July 2, 2016 – Accepted: November 14, 2016)

### Abstract

Identification and application of genetic diversity are essential to breeding programs success. In this study, genetic diversity of 20 rainfed barley genotypes were assessed using morphological traits as well RAPD and intron-exon splice junction (ISJ), semi-random markers. Results of this study showed that there were significant differences among genotypes for all traits, indicating high genetic variation among them. The highest and lowest broad sense heritability was related to spike length and grain yield, respectively. The estimates of genotypic coefficient of variation (GCV) and phenotypic coefficient of variation (PCV) were high for number of grain per spike, and low for 1000-kernel weight, respectively. Mean of polymorphic percentage in ISJ marker was higher than RAPD marker. Cluster analysis showed that the distinctions based on morphological traits did not correspond with the distinction based on molecular data. The results showed that RAPD and ISJ markers were able to distinct two and six-rowed and also hulless and hulled barley genotypes. Distinction of three clusters did not follow the same pattern. There was significant and negative correlation between similarity matrices of molecular data and morphological traits, but similarity matrices of two molecular markers was significantly and positively correlated.

**Keywords:** Rainfed barley, Genetic diversity, Molecular markers, Heritability,

---

\* Corresponding Author, E-mail: [mirdrikvand@khoiau.ac.ir](mailto:mirdrikvand@khoiau.ac.ir)