





دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته مهندسی کشاورزی اصلاح نباتات

بررسی تنوع ژنتیکی در خزانه ژنی عدس با استفاده از نشانگرهای
مولکولی RAPD و صفات مورفولوژیک در منطقه بردسیر

استاد راهنما

دکتر حسین دشتی

استادان مشاور

دکتر شهاب مداح حسینی

مهندس الهام دهقان

نگارنده

مرضیه نوری گوغری

اسفند ماه ۱۳۹۲

تمامی حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های
حاصل از پژوهش موضوع این پایان‌نامه، متعلق به دانشگاه
ولی‌عصر (عج) رفسنجان است



دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد

رشته‌ی مهندسی کشاورزی - اصلاح نباتات

مرضیه نوری گوغری

بررسی تنوع ژنتیکی در خزانه ژنی عدس با استفاده از نشانگرهای
مولکولی RAPD و صفات مورفولوژیک در منطقه بردسیر

در تاریخ ۹۲/۱۲/۱۰ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه‌ی عالی تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر حسین دشتی	با مرتبه‌ی علمی دانشیار	امضاء
۲- استاد مشاور پایان نامه	دکتر شهاب مداح حسینی	با مرتبه‌ی علمی استادیار	امضاء
۳- استاد مشاور پایان نامه	مهندس الهام دهقان	با مرتبه‌ی علمی مربی	امضاء
۴- استاد داور داخل گروه	دکتر علی اکبر محمدی میریک	با مرتبه‌ی علمی استادیار	امضاء
۵- استاد داور داخل گروه	دکتر محسن محمودنیا	با مرتبه‌ی علمی استادیار	امضاء
۶- نماینده‌ی تحصیلات تکمیلی	دکتر علی توکلی	با مرتبه‌ی علمی دانشیار	امضاء

ماحصل آموخته‌هایم را تقدیم می‌کنم به:

خداوند که آرامش بخش ثانیه‌هایم است

و

حضرت ولیعصر (عج) که امید بخش ناامیدی‌هایم است.

سایکوزاری:

حمد و سپاس خداوندی را که ستایش او، مایه رحمت و برکت است و برای لطف بی پایان او، پنج سرانجامی مقدر نمی باشد. حق تعالی را بسی شاکرم که مرا مورد لطف و عنایت خداوندیش قرار داد تا در وادی بزرگترین معرفت بشری یعنی علم، گامی هر چند ناچیز بردارم و در این مسیر از محضر انسانهایی عارف و شریف، فیض برم، انسانهایی که تمام عمرشان را وقف علم نموده اند. اکنون که با استانت از پروکلا قادر بی همتا، تخرش این پیمان نامه به پیمان رسید بر خود لازم می دانم از زحمات بی شائبه تمام سرورانی که در این زمینه بنده را یاری نمودند تشکر و قدردانی نمایم. محترم مراتب استان، سپاس و ارادت خالصانه خود را نسبت به استاد جناب آقای دکتر حسین وثیقی که بار نمودهای ارزنده خویش، با صد صدر و سعی وافر تمام مراحل کار را با وقت پیگیری نمودند و درس حدیث و دستکار بنده آموختند و بهترین راهنما و راهنما برایم بودند ابراز نمایم.

از استادان محترم جناب آقای دکتر صلاح حسینی و خانم مهندس جهان سپاس بی مقدار به پاس بزرگواریشان دارم.

پنجمین در برابر

پدر بزرگواریم که امروز من، ثمره زحمات و نجاتهای دروژ است کسی که دیما در برابر مهربانی او قطره ای بیش نیست.

و مادر مهربانم که معلم ایان، ایثار و همراه مهربانی است که قلب پاکش منبع دعای خیر در زندگی است

و همسر عزیزم که همراه بی شکلی ام است،

سر تعظیم فرودی آوردم و با تمام توان تشکر می کنم.

و سپاسی پر مهر تقدیم می کنم به بردار و خواهر انم که در طول زندگی از پیچ کوشش و خداکاری برایم دریغ ننمودند و همواره دیون محبت و مهربانی آنها هستم

چکیده

تنوع ژنتیکی اساس موفقیت در بهبود کمیت و کیفیت گیاهان زراعی است، شناخت تنوع ژنتیکی و پتانسیل ژنتیکی هر گونه گیاهی در اصلاح نباتات امری لازم و ضروری است. به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس متعلق به کلکسیون دانشکده کشاورزی کرج از طریق صفات مورفولوژیکی و مولکولی، در مطالعه مورفولوژی، آزمایشی در مزرعه منطقه بردسیر، در قالب طرح آگمنت با استفاده از ۳۵ ژنوتیپ عدس در سال ۱۳۹۱ اجرا شد. نتایج آمار توصیفی صفات نشان داد که تنوع قابل ملاحظه‌ای در ارتباط با اکثر صفات مورد ارزیابی وجود دارد. در این بررسی صفات تعداد دانه در بوته، تعداد انشعاب فرعی، تعداد غلاف پر، وزن غلاف پر، وزن خشک برگ و ساقه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت همبستگی معنی‌داری با عملکرد دانه نشان دادند. نتایج تجزیه مسیر نشان داد که بیشترین اثر مستقیم مثبت به عملکرد دانه مربوط به شاخص برداشت بود. تجزیه عاملی با دوران واریماکس ۶ عامل را استخراج نمود که حدود ۸۵.۹ درصد از کل تنوع داده‌ها را توجیه می‌نمود. تجزیه خوشه‌ای به روش Average linkage همه ژنوتیپ‌ها را در ۳ گروه متفاوت قرار داد. بیشترین تنوع بین کلاستر ۲ و ۳ مشاهده شد. در مطالعه مولکولی، ۳۰ ژنوتیپ با استفاده از ۱۵ آغازگر RAPD مورد ارزیابی قرار گرفتند. ۱۵۰ باند قابل امتیازدهی ایجاد شد. ۱۴۳ عدد از آنها چند شکل بود. بیشترین تعداد باند چندشکل (۱۶ باند) متعلق به آغازگر UBC611 و کمترین تعداد باند چندشکل (۵ باند) متعلق به آغازگرهای (G, B و J) بودند. و آغازگرهای B و I دارای بیشترین شاخص تنوع (۰.۴۲) بودند. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA با ضریب تشابه Dice انجام و دندروگرام مربوطه رسم گردید. تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در تشابه (۰.۵۹) به ۲ گروه اصلی طبقه‌بندی نمود. میزان تشابه از ۰.۸۹ تا ۰.۴۴ متغیر بود. بیشترین تشابه (۰.۸۹) بین دو ژنوتیپ یونان و شیلی ۱۶ و کمترین میزان تشابه (۰.۴۴) بین ژنوتیپ‌های شیلی ۲ و شیلی ۱۷ مشاهده گردید. ارتباط تعداد ۵۸ نشانگر با حداقل یکی از ۱۸ صفت کمی معنی‌دار بود که آن‌ها را می‌توان در انتخاب مقدماتی در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود. باندهای آگاهی بخش با استفاده از روش رگرسیون گام به گام ارتباط هریک از ۱۸ صفت کمی و ۱۵۰ لوکوس بررسی شد. بیشترین تعداد باندهای آگاهی بخش متعلق به صفات ارتفاع و تعداد دانه در غلاف و کمترین مربوط به صفت وزن صد دانه بود. ماتریس تشابه بین داده‌های مولکولی و مورفولوژی همبستگی مثبت اما غیرمعنی‌دار وجود داشت. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی بین ژنوتیپ‌های عدس وجود دارد و نشانگر مولکولی RAPD و صفات مورفولوژیک ابزار مناسبی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های عدس می‌باشد.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، تجزیه کلاستر، مارکر RAPD، عدس.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول
۱	مقدمه
۵	فصل دوم
۵	پیشینه‌ی پژوهش
۵	۱-۲ اهمیت و گیاه‌شناسی عدس
۵	۱-۱-۲ عدس
۵	۲-۱-۲ گیاه‌شناسی عدس
۶	۳-۱-۲ اهمیت و ارزش غذایی عدس
۶	۴-۱-۲ طبقه‌بندی
۷	۱-۲-۲ تنوع ژنتیکی و ضرورت شناخت آن
۸	۲-۲-۲ روش‌های ارزیابی تنوع ژنتیکی
۹	۳-۲ نشانگرها
۹	۱-۳-۲ نشانگرهای مورفولوژیکی
۱۰	۲-۳-۲ نشانگرهای بیوشیمیایی
۱۰	۳-۳-۲ نشانگرهای DNA
۱۲	۱-۳-۳-۲ نشانگرهای مولکولی RAPD
۱۳	۲-۳-۳-۲ نشانگرهای مولکولی AFLP
۱۴	۳-۳-۳-۲ نشانگرهای مولکولی ISSR
۱۴	۴-۳-۳-۲ نشانگرهای مولکولی ISJ
۱۵	۵-۳-۳-۲ نشانگرهای مولکولی ریزماهوره
۱۵	۴-۲ واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز
۱۶	۵-۲ الکتروفورز فراورده‌های PCR
۱۷	۶-۲ تجزیه به عامل‌ها
۱۸	۷-۲ تجزیه خوشه‌ای
۱۸	۸-۲ نشانگرهای آگاهی‌بخش
۱۹	۹-۲ مرور منابع

صفحه	عنوان
۱۹-۲	۱-۹-۲ بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از صفات مورفولوژی
۲۲	۲-۹-۲ بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD
۲۵	فصل سوم
۲۵	مواد و روش‌ها
۲۵	۱-۳ آزمایش اول: بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از صفات مورفولوژی
۲۵	۱-۱-۳ کاشت عدس
۲۶	۲-۱-۳ مشخصات ژنوتیپ‌های تحت بررسی
۲۶	۳-۱-۳ صفات اندازه‌گیری شده
۲۷	۴-۱-۳ محاسبات آماری
	۲-۳ آزمایش دوم: بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از نشانگرهای مولکولی
۳۰	RAPD
۳۰	۱-۲-۳ مشخصات ژنوتیپ‌های تحت بررسی
۳۰	۲-۲-۳ استخراج DNA
۳۱	۳-۲-۳ تعیین کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA
۳۱	۱-۳-۲-۳ اسپکتروفتومتر
۳۱	۴-۲-۳ رقیق سازی نمونه‌های DNA
۳۲	۵-۲-۳ رقیق سازی پرایمر (آغازگر)
۳۲	۶-۲-۳ انجام آزمایشات RAPD
۳۴	۷-۲-۳ مشاهده محصول PCR
۳۴	۱-۷-۲-۳ الکتروفورز فرآورده‌های تکثیر شده
۳۵	۸-۲-۳ محاسبات آماری
۳۷	فصل چهارم
۳۷	نتایج و بحث
۳۷	۱-۴ نتایج آزمایش بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از صفات مورفولوژی
۳۷	۱-۱-۴ آزمون یکنواختی زمین ژنوتیپ‌های عدس
۴۴	۲-۱-۴ آمار توصیفی و میزان تنوع ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از صفات مورفولوژی
۴۵	۳-۱-۴ تجزیه همبستگی بین صفات

صفحه	عنوان
۴۷	۴-۱-۴ رگرسیون گام به گام.....
۵۱	۴-۱-۵ تجزیه علیت.....
۵۲	۴-۱-۶ تجزیه به عامل‌ها.....
۶۵	۴-۱-۸ تجزیه تابع تشخیص.....
۶۸	۴-۲ بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD.....
۶۸	۴-۲-۱ نتایج بررسی کمیت و کیفیت استخراج DNA.....
۷۰	۴-۲-۲ بررسی چندشکلی.....
۷۶	۴-۲-۳ گروه‌بندی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD.....
۷۷	۴-۲-۴ تجزیه به مختصات.....
۸۱	۴-۳ مقایسه بین دو روش گروه‌بندی.....
۸۶	۴-۴ شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش.....
۹۷	فصل پنجم.....
۹۷	نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها.....
۱۰۱	منابع.....

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۴-۱- اسکری گراف عامل‌های اصلی تخمین زده شده از ۱۸ صفت مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های عدس (مقدار ویژه برابر با واریانس درون هر عامل است).....	۵۷
شکل ۴-۲- تجزیه دی‌پلات (تصویر دو بعدی) پراکنش ۳۵ ژنوتیپ عدس براساس صفات مؤثر در عامل‌های اول و دوم.....	۵۸
شکل ۴-۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای صفات زراعی.....	۶۳
شکل ۴-۴- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ۳۵ ژنوتیپ عدس براساس نتایج تجزیه به عامل‌ها.....	۶۴
شکل ۴-۵- گروه‌بندی ۳۵ ژنوتیپ عدس براساس صفات اندازه‌گیری شده به روش AVERAGE LINKAGE.....	۶۵
شکل ۴-۶- الگوی بانندی نمونه‌های مورد مطالعه برای آغازگر UBC66.....	۷۱
شکل ۴-۷- مقایسه ماتریس تشابه دایس (X) با ماتریس کوفنتیک حاصل از آن (Y).....	۷۶
شکل ۴-۸- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از ضریب تشابه DICE براساس نشانگر RAPD.....	۷۸
شکل ۴-۹- نمودار دو بعدی تجزیه به مختصات برای ژنوتیپ‌های عدس در تشابه ۰.۵۹ براساس نشانگرهای RAPD.....	۸۰
شکل ۴-۱۰- نمودار سه بعدی تجزیه به مولفه‌ها برای ژنوتیپ‌های عدس براساس نشانگرهای RAPD.....	۸۰

فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۲۹	جدول ۳-۱- لیست ژنوتیپ‌های عدس مورد بررسی در آزمایش
۳۳	جدول ۳-۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده
۳۳	جدول ۳-۳- مخلوط واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر
۳۴	جدول ۳-۴- برنامه زمانی و دمای مورد نیاز برای انجام مراحل واکنش PCR
۳۸	جدول ۴-۱- تجزیه واریانس ارقام شاهد برای صفات مختلف مورد بررسی
۳۸	ادامه جدول ۴-۱- تجزیه واریانس ارقام شاهد برای صفات مختلف مورد بررسی
۳۹	ادامه جدول ۴-۱- تجزیه واریانس ارقام شاهد برای صفات مختلف مورد بررسی
۳۹	جدول ۴-۲- آزمون کلموگروف- اسمیرونوف صفات مورد مطالعه برای ۳۵ ژنوتیپ عدس
۴۰	جدول ۴-۳- میانگین تصحیح شده صفات تعداد روز از کاشت تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد روز از کاشت تا رسیدگی، تعداد روز از گلدهی تا رسیدگی، ارتفاع بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، طول غلاف، تعداد غلاف پر، وزن غلاف پر، برای ۳۵ ژنوتیپ عدس
۴۰	ادامه جدول ۴-۳- میانگین تصحیح شده صفات تعداد روز از کاشت تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد روز از کاشت تا رسیدگی، تعداد روز از گلدهی تا رسیدگی، ارتفاع بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، طول غلاف، تعداد غلاف پر و وزن غلاف پر برای ۳۵ ژنوتیپ عدس
۴۱	ادامه جدول ۴-۳- میانگین تصحیح شده صفات تعداد دانه در بوته، عملکرد دانه، وزن خشک برگ و ساقه، عملکرد بیولوژیک، تعداد انشعاب فرعی، تعداد غلاف خالی، وزن غلاف خالی، شاخص برداشت و میزان کلروفیل برای ۳۵ ژنوتیپ عدس
۴۲	ادامه جدول ۴-۳- میانگین تصحیح شده صفات تعداد دانه در بوته، عملکرد دانه، وزن خشک برگ و ساقه، عملکرد بیولوژیک، تعداد انشعاب فرعی، تعداد غلاف خالی، وزن غلاف خالی، شاخص برداشت و میزان کلروفیل برای ۳۵ ژنوتیپ عدس
۴۳	ادامه جدول ۴-۳- میانگین تصحیح شده صفات تعداد دانه در بوته، عملکرد دانه، وزن خشک برگ و ساقه، عملکرد بیولوژیک، تعداد انشعاب فرعی، تعداد غلاف خالی، وزن غلاف خالی، شاخص برداشت و میزان کلروفیل برای ۳۵ ژنوتیپ عدس
۴۵	جدول ۴-۴- آمار توصیفی مربوط به صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های عدس
۴۹	جدول ۴-۵- ضرایب هم‌بستگی بین صفات مختلف در عدس
۵۰	جدول ۴-۶- نتایج رگرسیون مرحله‌ای عملکرد دانه به عنوان متغیر وابسته و دیگر صفات زراعی به عنوان متغیرهای مستقل در ژنوتیپ‌های عدس زراعی
۵۰	جدول ۴-۷- مقایسه ضرایب رگرسیون جزئی استاندارد شده (وزن‌های بتا) با ضرایب استاندارد نشده در مرحله نهایی رگرسیون گام به گام
۵۲	جدول ۴-۸- نتایج تجزیه ضرایب مسیر برای عملکرد دانه

عنوان	صفحه
جدول ۴-۹- ضرایب عامل‌های مشترک، واریانس‌های نسبی و تجمعی و میزان اشتراک عامل‌ها در صفات زراعی ۳۵ ژنوتیپ عدس.....	۵۵
ادامه جدول ۴-۹- ضرایب عامل‌های مشترک، واریانس‌های نسبی و تجمعی و میزان اشتراک عامل‌ها در صفات زراعی ۳۵ ژنوتیپ عدس.....	۵۶
جدول ۴-۱۰- آماره‌های پراکندگی کلاسترها.....	۶۱
جدول ۴-۱۱- توزیع ۳۵ ژنوتیپ با استفاده از صفات مورفولوژی در کلاسترهای گوناگون.....	۶۱
جدول ۴-۱۲- فاصله بین گروه‌ها در گروه‌بندی ۳۵ ژنوتیپ عدس مورد مطالعه.....	۶۲
جدول ۴-۱۳- میانگین صفات مورد بررسی در ۳۵ ژنوتیپ عدس مورد مطالعه.....	۶۲
جدول ۴-۱۴- مقادیر ویژه و درصد تبیین واریانس هر کدام از توابع.....	۶۶
جدول ۴-۱۵- ضرایب استاندارد شده صفات در توابع تشخیص اول و دوم.....	۶۷
جدول ۴-۱۶- مقادیر عددی توابع تشخیص برای گروه‌های سه‌گانه براساس میانگین صفات هر گروه.....	۶۷
جدول ۴-۱۷- نسبت موفقیت افراد درون گروه‌ها با تابع تشخیص.....	۶۸
جدول ۴-۱۸- نتایج بررسی کمیت و کیفیت DNA مورد مطالعه.....	۶۹
جدول ۴-۱۹- آغازگرهای مورد استفاده، تعداد کل باند، تعداد مکان تکثیر شده، متوسط باند در مکان، تعداد قطعات چندشکل و درصد چندشکلی در جایگاه RAPD در ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه.....	۷۳
جدول ۴-۲۰- آغازگرهای مورد استفاده، شاخص تنوع برای هر پرایمر، متوسط شاخص تنوع برای هر پرایمر، قدرت تفکیک، متوسط میزان اطلاع رسانی برای هر آغازگر، شاخص نشانگر و نسبت چندگانه در جایگاه RAPD برای ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه.....	۷۴
جدول ۴-۲۱- همبستگی بین EMR، MI، Rp و DI.....	۷۴
جدول ۴-۲۲- ماتریس تشابه ژنوتیپ‌های عدس مبتنی بر نشانگرهای RAPD.....	۷۵
جدول ۴-۲۳- بردار، مقادیر ویژه، سهم واریانس توجیه شده و سهم تجمعی واریانس توجیه شده در تجزیه مختصات ژنوتیپ‌ها با استفاده از آغازگر RAPD.....	۷۹
جدول ۴-۲۴- توزیع ۳۰ ژنوتیپ در کلاسترهای گوناگون با استفاده از صفات مورفولوژی.....	۸۳
جدول ۴-۲۵- توزیع ۳۰ ژنوتیپ در کلاسترهای گوناگون با استفاده از نشانگر RAPD.....	۸۳

صفحه	عنوان
۸۴	جدول ۴-۲۶- میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۳۰ ژنوتیپ عدس براساس صفات زراعی.
۸۹	جدول ۴-۲۷- نشانگرهای INFORMATIVE برای ۱۸ صفت زراعی مورد بررسی در ژنوتیپ‌های عدس.
۹۰	ادامه جدول ۴-۲۷- نشانگرهای INFORMATIVE برای ۱۸ صفت زراعی مورد بررسی در ژنوتیپ‌های عدس.
۹۱	ادامه جدول ۴-۲۷- نشانگرهای INFORMATIVE برای ۱۸ صفت زراعی مورد بررسی در ژنوتیپ‌های عدس.
۹۲	ادامه جدول ۴-۲۷- نشانگرهای INFORMATIVE برای ۱۸ صفت زراعی مورد بررسی در ژنوتیپ‌های عدس.
۹۳	ادامه جدول ۴-۲۷- نشانگرهای INFORMATIVE برای ۱۸ صفت زراعی مورد بررسی در ژنوتیپ‌های عدس.
۹۴	ادامه جدول ۴-۲۷- نشانگرهای INFORMATIVE برای ۱۸ صفت زراعی مورد بررسی در ژنوتیپ‌های عدس.
۹۵	جدول ۴-۲۸- مشترکات صفات مورفولوژی با باندها.
۹۶	ادامه جدول ۴-۲۸- مشترکات صفات مورفولوژی با باندها.

فهرست پیوست‌ها

صفحه	عنوان
۱۱۳	پیوست ۱. دستورالعمل تهیه بافر استخراج.....
	پیوست ۲. دستورالعمل تهیه محلول بافر الکتروفورز تریس - استیک اسید - ای دت ا (TAE 50X)
۱۱۳
	پیوست ۳. دستورالعمل تهیه محلول اتیلن دی آمین تترااستیک اسید ۰/۵ مولار (EDTA ۰۵/M)
۱۱۳

فصل اول

مقدمه

تنوع ژنتیکی مبنای همه‌ی گزینش‌ها بوده و انتخاب ژنوتیپ‌های دارای صفات مطلوب نیز نیازمند تنوع می‌باشد. منابع ژنتیکی گیاهی، به‌عنوان بستر توسعه کشاورزی و منبع ژنتیک سازگاری، همچون سپری در برابر تغییرات محیطی عمل می‌کند. ادامه روند افزایش تولید و بهبود کیفیت مواد غذایی بستگی به حفاظت و به‌کارگیری مؤثر منابع ژنتیکی دارد که رسیدن به این اهداف، مستلزم حفاظت، ارزیابی، ثبت و تبادل این مواد است (Ramanujam *et al.*, 1974). از بین رفتن منابع ژنتیکی یا ذخایر توارثی را فرسایش ژنتیکی گویند. در واقع فرسایش ژنتیکی در طول ده‌ها سال گذشته بر اثر سرعت زیاد در تخریب منابع ژنتیکی اتفاق افتاده است. استفاده از واریته‌های پرمحصول و اصلاح شده به جای واریته‌های بومی، روش‌های مدرن زراعی، تبدیل محیط‌های دست‌نخورده در طبیعت به مزارع و چراگاه‌ها و استفاده بی‌رویه از آن‌ها، رشد شهرها، احداث جاده‌ها، فرودگاه‌ها و مجتمع‌های صنعتی، باعث فرسایش ذخایر ژنتیکی داخلی که طی سالیان متمادی با اقلیم‌های مختلف ایران سازش یافته‌اند می‌گردد. به همین دلیل فعالیت‌های مربوط به شناسایی، حفاظت و بهره‌برداری پایدار از این ذخایر اهمیتی دوچندان دارد (فارسی و باقری، ۱۳۸۹).

تداوم فرسایش سریع ذخایر ژنتیکی گیاهان نه تنها امکان بهبود آینده عملکرد را کاهش می‌دهد بلکه زراعت گیاهان را به‌طور افزاینده‌ای در مقابل بروز بیماری‌های جدید و تغییرات اقلیمی آسیب

پذیر می‌سازد. در گذشته، به علت کشت ارقام بومی در مناطق مختلف، تنوع در جمعیت گیاهان در مناطق جغرافیایی به مقدار زیادی وجود داشت، ولی به تازگی به علت استفاده از ارقام اصلاح شده و یکنواختی ژنتیکی، ارقام مختلف گیاهان در معرض انقراض قرار گرفته‌اند. لذا، بررسی و شناسایی تنوع برای صفات موردنظر در گیاهان در برنامه‌ریزی اصلاحی و استفاده از دامنه ژنتیکی متنوع در انتقال ژن اهمیت فراوانی دارد. برای بهره‌مندی از تنوع موجود و ایجاد تغییرات جدید ارزیابی ذخایر ژرم‌پلاسم ضروری به نظر می‌رسد و موجب شناخت هر چه بیشتر و دقیق‌تر ذخایر توارثی گردیده و امکان بهره‌گیری واقعی از این منابع را فراهم می‌سازد (مجیرشیبانی و همکاران، ۱۳۹۲).

حبوبات از منابع مهم غذایی، سرشار از پروتئین، برای تغذیه انسان و دام به‌شمار می‌روند. دانه حبوبات با دارا بودن حدود ۱۸-۳۲ درصد پروتئین در مقایسه با پروتئین‌های حیوانی در رژیم غذایی مردم، به ویژه در تغذیه افراد کم درآمد، اهمیت بسیار دارند و تحت عنوان "گوشت مردم فقیر" نامیده می‌شوند. حبوبات ویژگی‌های دیگری نیز دارند و در اکوسیستم‌های کشاورزی جهان در تناوب با سایر گیاهان زراعی و تثبیت نیتروژن جوی در هم‌زیستی با باکتری‌ها بخش عمده‌ای از نیتروژن مورد نیاز گیاهان زراعی بعد از خود را فراهم می‌سازد (سیدی و صباغ‌پور، ۱۳۸۴).

عدس یکی از قدیمی‌ترین گیاهان غذایی بوده که منشأ آن از خاور نزدیک است. قدمت این گیاه به شروع کشاورزی بر می‌گردد، عدس زراعی ارزش اولیه آن در قابلیت تولید حدود ۲۵ درصد پروتئین با کیفیت بالا و توانایی آن در تثبیت ازت خاک در تناوب زراعی در محیط‌های حاشیه‌ای خشک است (آقایی و همکاران، ۱۳۸۳). عدس در ایران دارای تنوع بسیار بالایی از نظر صفات کیفی و کمی می‌باشد. با توجه به اهمیت مطالعات ژنتیکی در اصلاح گیاهان و گسترش روزافزون کشت و تولید حبوبات، شناخت توان ژنتیکی نهفته موجود در این گیاهان از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. در حقیقت با شناسایی تنوع موجود در ارقام مختلف، شانس موفقیت در برنامه‌های اصلاحی افزایش یافته و امکان برنامه‌ریزی اصلاحی در جهت انتخاب صفات مؤثر در بهبود عملکرد فراهم خواهد شد (پوراسماعیل و همکاران ۱۳۹۱). تنوع و روابط ژنتیکی بین گونه‌های مختلف عدس اهمیت زیادی برای حفاظت منابع ژنتیکی عدس و پتانسیل اصلاح دارد. به وسیله نشانگرهای مولکولی می‌توان تنوع موجود در بخش‌های کدشونده و غیرکدشونده ژنوم و بخش‌های بین ژنی که می‌تواند بسیار اختصاصی باشد و نیز در شناسایی، رده‌بندی، روابط فیلوژنی و تکاملی استفاده نمود (Ford et al., 1997).

فرضیه‌های این تحقیق عبارتند از:

۱. آیا تنوع ژنتیکی قابل توجهی از لحاظ مارکرهای مولکولی در ارقام عدس وجود دارد؟
۲. آیا تنوع ژنتیکی قابل توجهی از لحاظ صفات مورفولوژیک در ارقام عدس وجود دارد؟

۳. آیا گروه‌بندی ارقام براساس مارکرهای مولکولی با گروه‌بندی ارقام براساس صفات مورفولوژیک مطابقت دارد؟

اهداف این تحقیق عبارت بودند از:

۱. شناسایی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD.
۲. شناسایی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از صفات مورفولوژی.
۳. تعیین صفات با بیشترین تأثیر بر عملکرد دانه در ارقام عدس.
۴. گروه‌بندی، تمایز و تعیین دوری و نزدیکی ارقام عدس.
۵. بررسی مطابقت گروه‌بندی بین صفات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی.

فصل دوم

پیشینه‌ی پژوهش

۱-۲ اهمیت و گیاه‌شناسی عدس

۱-۱-۲ عدس

عدس زراعی با نام علمی *Lens culinaris* Medik گیاهی است یک‌ساله متعلق به تیره لگومینوزه، زیرخانواده پروانه آسا، از قبیله Viciae که منشأ آن را خاور نزدیک ذکر کردند (مجنون حسینی، ۱۳۸۷). عدس یکی از حبوبات سرما دوست بوده و مشخصاً گیاهی روز بلند است از نواحی دشت تا ارتفاع ۳۵۰۰ متری قابل کشت است و تغییرات حرارتی مناسب آن ۱۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد، ولی دماهای بالا جهت توسعه تاج پوششی (کانوپی)، پیدایش برگ‌ها و شاخه‌دهی این گیاه لازم است. عدس گیاهی مقاوم به سرماست، ولی دمای پایین ($10 <$ درجه سانتی‌گراد) جوانه‌زنی را به تأخیر انداخته و رشد رویشی را کم می‌کند (صالحی و همکاران ۱۳۸۶).

۲-۱-۲ گیاه‌شناسی عدس

عدس گیاهی است خودگشن که عمل گرده‌افشانی در داخل غنچه‌ها قبل از باز شدن گل‌ها در صبح روز بعد انجام می‌گیرد، میزان دگرگشتی آن خیلی کم است (احتمالاً توسط حشرات کوچک مانند تریپس و غیره انجام می‌شود). گل‌دهی در عدس حدود ۴۵-۶۰ روز رخ می‌دهد (مجنون حسینی، ۱۳۸۷). عدس گیاهی است دیپلوئید ($2n=2x=14$)، گل‌آذین عدس به صورت خوشه با ۲-۴ گل که بر روی دمگل مشترک باریک و بلند قرار دارد، و از محور برگ‌ها ظاهر می‌شوند. گل‌ها کوچک، سفیدرنگ با لکه‌های آبی، بنفش یا ارغوانی هستند

و شامل ۵ کاسبرگ، ۵ گلبرگ، ۱۰ پرچم و یک مادگی کوتاه با یک یا دو تخمک می‌باشند (Sharma *et al.*, 1996). غلاف‌های عدس مستطیلی، پهن و فشرده و دارای سطح صاف بوده که حدود ۳ سانتی‌متر طول و یک سانتی‌متر عرض دارند، هر غلاف به طور معمول دارای دو بذر محدب می‌باشد. پوسته بذر به رنگ قهوه‌ای روشن، زرد مایل به سبز، خاکستری مایل به قهوه‌ای، به صورت یکنواخت و یا ابلق با لکه‌های ارغوانی و سیاه می‌باشد. گیاه عدس علفی، اغلب به فرم بوته‌ای یا ایستاده به ارتفاع ۶۰-۵۰ سانتی‌متر، برگ‌های آن دارای ۶ تا ۱۴ برگچه می‌باشد که در انتهای آن پیچک قرار دارد (مجنون حسینی، ۱۳۸۷).

۲-۱-۳ اهمیت و ارزش غذایی عدس

حبوبات به علت دارا بودن برخی ویژگی‌های غذایی و زراعی قابل ملاحظه، اهمیت ویژه‌ای در نظام‌های کشاورزی کشورهای در حال توسعه دارند. در بین حبوبات، عدس علاوه بر دارا بودن مقدار زیاد پروتئین (حدود ۲۸ درصد) با کیفیت مناسب و مکمل برای پروتئین غلات، به دلیل هم‌زیستی با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن هوا و حاصل‌خیز نمودن خاک‌ها، ضمن داشتن تناوب با غلات، عامل مهمی در ثبات تولید این محصولات در مناطق خشک و دیم‌زارهای کشورهای در حال توسعه می‌باشد (Anjam *et al.*, 2005).

دانه عدس از لحاظ غذایی، دارای عناصر غذایی متنوعی است. ۱۰۰ گرم عدس دارای ۲۵ گرم پروتئین، ۱/۸ گرم چربی، ۳/۱ گرم الیاف، ۲/۲ گرم خاکستر، ۵۶ میلی‌گرم کلسیم، ۶/۱ میلی‌گرم آهن، ۴ واحد ویتامین C، ۰/۵ میلی‌گرم ریبولوین، ۰/۴۶ میلی‌گرم تیامین، ۱/۸ میلی‌گرم نیاسین و ۳۴۶ کالری بوده و یکی از منابع اصلی تأمین مواد غذایی و پروتئین گیاهی به شمار می‌رود (Munir *et al.*, 2004).

کاه و پوسته‌های غلاف عدس ارزش غذایی خوبی دارد و از نظر پروتئین غنی (۶/۴ درصد)، از نظر الیاف خام فقیر (۳/۷ درصد) و قابلیت هضم بالا (TDN=44-46%) نسبت به سایر بقولات دارد و به عنوان علوفه، به خوبی در تغذیه دام می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. عدس در یبوست و اختلالات روده‌ای مفید است، هم‌چنین در جلوگیری از سکته نیز مؤثر می‌باشد. مرهم خمیر عدس جهت التیام زخم‌های باقی‌مانده از آبله در طب سنتی توصیه شده است (محمودی، ۱۳۸۵).

۲-۱-۴ طبقه‌بندی

انواع عدس *Lens culinaris* به دو زیر گونه ماکرو و میکروسپرما طبقه‌بندی شده است. الف) گونه ماکروسپرما (دانه درشت): ارقام این زیر گونه غالباً در منطقه مدیترانه (مانند ترکیه، سوریه،