

صلى الله عليه وسلم



دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

بررسی تنوع مولکولی و مورفولوژیک در جوامع اسپرس

پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات

محمد ضرایبان

استاد راهنما

دکتر محمد مهدی مجیدی

۱۳۹۰



دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات آقای محمد ضرابیان

تحت عنوان

بررسی تنوع مولکولی و مورفولوژیک در جوامع اسپرس

در تاریخ ۱۳۹۰/۱۱/۱۷ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

| | |
|-----------------------|-------------------------------|
| دکتر محمد مهدی مجیدی | ۱- استاد راهنمای پایان نامه |
| دکتر محمد حسین اهتمام | ۲- استاد مشاور پایان نامه |
| دکتر مهدی رحیم ملک | ۳- استاد مشاور پایان نامه |
| دکتر آقا فخر میرلوحی | ۵- استاد داور |
| دکتر مجید طالبی | ۶- استاد داور |
| دکتر احمد ریاسی | سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده |

تشکر و قدردانی:

علاقتمندم که از صمیم قلب قدرشناسی خود را از مادر فداکارم که بدون زحمات بی‌دریغ، لطف بی‌شائبه، حمایت‌ها و تشویق‌های آرامش‌بخش و امیددهنده‌ی ایشان هیچگاه رسیدن به این درجه برایم میسر نبود، ابراز کنم. همچنین از پدر عزیزم برای محبت‌ها و حمایت‌هایشان سپاسگزاری می‌کنم.

بر خود لازم می‌دانم از استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمد مهدی مجیدی که اینجانب را در امر تهیه‌ی این پایان‌نامه همراهی کردند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

همچنین از جناب آقای دکتر محمد حسین اهتمام و جناب آقای دکتر مهدی رحیم ملک که همواره به‌عنوان یک استاد مشاور از وجود ایشان استفاده کرده‌ام، بسیار سپاسگزارم. از اساتید داور محترم نیز که زحمت بازخوانی و داوری این پایان‌نامه را بر عهده گرفتند تشکر می‌نمایم.

از آقای مهندس خزایی و خانوم بهارلویی که در مسیر انجام این پایان‌نامه از مساعدت‌هایشان بسیار بهره‌مند شدم تشکر می‌نمایم. در نهایت بر خود می‌دانم از دوستان دلسوز خود آقایان محمد مهدی خدایی، محمد یوسفی، اسلام شهبازی و خانوم ایدا انصاری که در این پروژه همراهی کردند، و بدون کمک ایشان هیچگاه این پایان‌نامه بدین شکل تدوین نمی‌شد، تشکر می‌نمایم.

بخشی از ارقام زراعی و گونه‌های وحشی مورد استفاده در این تحقیق توسط بانک ژن IPK آلمان و USDA آمریکا تأمین گردیده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی به عمل می‌آید

حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و کلیه
نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به پدر و مادرم

که همواره روشنی بخش راهم بودند

فهرست مطالب

| عنوان | صفحه |
|------------------|--------|
| فهرست مطالب..... | هشت |
| فهرست جداول..... | یازده |
| فهرست اشکال..... | چهارده |
| چیکده..... | ۱ |

فصل اول : مقدمه و بررسی منابع

| | |
|--|----|
| ۱-۱- مقدمه..... | ۲ |
| ۱-۲- رده بندی اسپرس | ۴ |
| ۱-۳- سیتوژنتیک اسپرس | ۵ |
| ۱-۴- ویژگی های گیاهشناسی اسپرس | ۶ |
| ۱-۵- سازگاری..... | ۷ |
| ۱-۶- اهداف و روش های اصلاحی در اسپرس | ۸ |
| ۱-۷- تنوع ژنتیکی | ۹ |
| ۱-۷-۱- اهمیت و کاربرد | ۹ |
| ۱-۷-۲- مورفولوژی و آناتومی | ۱۰ |
| ۱-۷-۳- نشانگرهای مولکولی | ۱۲ |
| ۱-۷-۴- کاربرد نشانگر ISSR در تنوع ژنتیکی | ۱۵ |

فصل دوم : مواد و روش

| | |
|--|----|
| ۲-۱- موقعیت و ویژگی های مکان آزمایش | ۱۷ |
| ۲-۲- مواد ژنتیکی و نحوه اجرای آزمایش در مزرعه..... | ۱۸ |
| ۲-۳- صفات مورد بررسی و نحوه اندازه گیری..... | ۱۸ |
| ۲-۳-۱- صفات مورفولوژی | ۱۸ |
| ۲-۳-۲- صفات آناتومی | ۱۹ |
| ۲-۳-۳- بررسی چند شکلی نشانگر ISSR..... | ۲۴ |
| ۲-۳-۴- تعیین کیفیت و کمیت DNA با استفاده از ژل آگارز | ۲۵ |

۲-۳-۳- واکنش زنجیره ای پلی مراز ۲۶

۲-۳-۴- تجزیه تحلیل آماری ۲۷

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱-۱- تحلیل تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسما اسپرس زراعی از طریق ارزیابی صفات مورفولوژیک و زراعی ۳۰

۳-۱-۱-۱- آماره‌های توصیفی برآورد ضرایب تغییرات فنوتیپی، ژنوتیپی و وراثت پذیری عمومی ۳۰

۳-۱-۱-۲- برآورد ضرایب تغییرات فنوتیپی، ژنوتیپی و وراثت پذیری عمومی ۳۱

۳-۱-۳- تجزیه وایانس ۳۳

۳-۱-۴- مقایسه میانگین ارقام ۳۶

۳-۱-۵- مقایسه میانگین سال ها و چین ها ۴۹

۳-۱-۶- همبستگی بین صفات ۵۰

۳-۱-۷- تجزیه رگرسیون مرحله‌ای و تجزیه علیت ۵۷

۳-۱-۸- گروه‌بندی ارقام (تجزیه خوشه‌ای) ۵۹

۳-۱-۹- تجزیه به مولفه‌های اصلی ۶۱

۳-۲- تحلیل تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسما اسپرس زراعی با استفاده از نشانگر ISSR ۶۵

۳-۲-۱- الگوی نواری آغازگرها ۶۵

۳-۲-۲- شباهت و تنوع بین ارقام مورد بررسی ۶۶

۳-۲-۳- گروه بندی بر اساس تجزیه خوشه‌های ۶۶

۳-۲-۵- ساختار ژنتیکی جمعیت ها ۷۱

۳-۲-۷- مقایسه نتایج گروه‌بندی بر اساس بررسی های فنوتیپی و نشانگر ISSR ۸۲

۳-۳- تحلیل تنوع ژنتیکی بین گونه‌های اسپرس از طریق ارزیابی گیاهشناسی ۸۳

۳-۳-۱- بررسی آناتومی برگ در برخی ارقام اسپرس زراعی ۸۳

۳-۳-۲- بررسی سایر صفات گیاهشناسی ۸۵

۳-۳-۳- صفات مرتبط با اندازه بذر گونه‌ها ۹۲

۳-۳-۴- تجزیه خوشه‌ای ۹۶

۳-۳-۵- تجزیه به مولفه‌های اصلی ۹۷

۳-۳-۶- گروه بندی بخش‌ها بر اساس خصوصیات گیاهشناسی ۹۸

فصل چهارم : نتیجه گیری کلی و پیشنهادات

۵-۱- نتیجه گیری نهایی ۱۰۴

۵-۲- پیشنهادات ۱۰۶

منابع ۱۰۷

پیوست ۱۱۸

فهرست جداول

| صفحه | عنوان |
|---------|--|
| ۷..... | جدول ۱-۱- سطوح پلوتیدی برخی از گونه‌های جنس <i>Onobrychis</i> |
| ۲۰..... | جدول ۱-۲- مشخصات محل جمع آوری توده‌های زراعی اسپرس مورد مطالعه در بررسی تنوع ژنتیکی..... |
| ۲۲..... | جدول ۲-۲- مشخصات محل جمع آوری گونه‌های وحشی اسپرس مورد مطالعه در بررسی تنوع ژنتیکی..... |
| ۲۶..... | جدول ۲-۴- برنامه PCR برای تکثیر DNA ژنومی در نشانگر ISSR..... |
| ۲۷..... | جدول ۲-۵- اجزای واکنش PCR برای نشانگر ISSR..... |
| ۳۱..... | جدول ۱-۳- مقادیر میانگین، دامنه (حداکثر و حداقل) و مقایسه گروهی ۵۶ رقم اسپرس زراعی..... |
| ۳۲..... | جدول ۲-۳- ضرایب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی و قابلیت توارث پذیری عمومی برای صفات مورد مطالعه در رقم های اسپرس در طی دو سال..... |
| ۳۳..... | جدول ۳-۳- میانگین مربعات صفات مقاومت به سفیدک سطحی و قطر طوقه در ارقام اسپرس زراعی مورد بررسی..... |
| ۳۴..... | جدول ۳-۴- میانگین مربعات منابع مختلف تغییر در تجزیه واریانس کرت دوبر خرد شده در زمان برای صفات مورفولوژیک در ارقام اسپرس زراعی..... |
| ۳۵..... | جدول ۳-۵- میانگین مربعات منابع مختلف تغییر در تجزیه واریانس کرت دوبر خرد شده در زمان برای صفات عملکرد و اجزای عملکرد در ارقام اسپرس زراعی..... |
| ۳۸..... | جدول ۳-۶- مقایسه میانگین ارقام اسپرس زراعی برای صفات عملکرد و اجزای عملکرد در سال اول..... |
| ۴۰..... | جدول ۳-۷- مقایسه میانگین ارقام اسپرس زراعی برای صفات عملکرد و اجزای عملکرد در سال دوم..... |
| ۴۲..... | جدول ۳-۸- مقایسه میانگین ارقام اسپرس زراعی برای صفات عملکرد و اجزای عملکرد بر مبنای میانگین دو سال..... |
| ۴۴..... | جدول ۳-۹- مقایسه میانگین ارقام اسپرس زراعی برای برخی صفات مورفولوژیک و زراعی در سال اول..... |
| ۴۵..... | جدول ۳-۱۰- مقایسه میانگین ارقام اسپرس زراعی برای صفات مورفولوژیک و زراعی در سال دوم..... |
| ۴۶..... | جدول ۳-۱۱- مقایسه میانگین ارقام اسپرس زراعی برای صفات مورفولوژیک و زراعی بر مبنای میانگین ۲ سال..... |
| ۴۷..... | جدول ۳-۱۲- مقایسه میانگین مقاومت به سفیدک سطحی و قطر طوقه در ارقام اسپرس زراعی..... |

- جدول ۳-۱۳ - مقایسه میانگین سال‌ها در مطالعه رقم‌های اسپرس زراعی طی سالهای ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰..... ۵۴
- جدول ۳-۱۴ - ضرایب همبستگی فنوتیپی بین صفات مختلف در ارقام اسپرس زراعی..... ۵۶
- جدول ۳-۱۵ - نتایج رگرسیون مرحله‌ای برای عملکرد علوفه خشک به عنوان متغیر تابع در برابر سایر صفات..... ۵۸
- جدول ۳-۱۶ - نتایج تجزیه همبستگی (تجزیه مسیر) برای تعیین اثرات مستقیم و غیر مستقیم صفات بر عملکرد علوفه خشک در ارقام اسپرس..... ۵۸
- جدول ۳-۱۷ - نتایج رگرسیون مرحله‌ای برای نسبت برگ به ساقه به عنوان متغیر تابع در برابر سایر صفات..... ۵۹
- جدول ۳-۱۸ - نتایج تجزیه همبستگی (تجزیه مسیر) برای تعیین اثرات مستقیم و غیر مستقیم صفات بر نسبت برگ به ساقه در ارقام اسپرس..... ۵۹
- جدول ۳-۱۹ - میانگین صفات در هر یک از گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر در ۵۶ رقم داخلی و خارجی اسپرس زراعی..... ۶۳
- جدول ۳-۲۰ - میانگین صفات در هر یک از زیر گروه‌های گروه اول و سوم حاصل از تجزیه کلاستر در اسپرس..... ۶۴
- جدول ۳-۲۱ - اطلاعات نشانگرهای چند شکل در ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام اسپرس زراعی..... ۶۷
- جدول ۳-۲۲ - تجزیه واریانس مولکولی برای تمایز دو گروه داخلی و خارجی ارقام اسپرس زراعی..... ۸۰
- جدول ۳-۲۳ - تجزیه واریانس مولکولی ارقام اسپرس زراعی به تفکیک ارقام خارجی و داخلی..... ۸۰
- جدول ۳-۲۴ - مقادیر ضرایب تشابه (بالای قطر) و فواصل ژنتیکی (پایین قطر) ۸ منطقه جغرافیایی فرض شده با روش نی و لی..... ۸۰
- جدول ۳-۲۵ - اطلاعات مربوط به پارامترهای ژنتیکی جمعیت‌های اسپرس زراعی..... ۸۱
- جدول ۳-۲۶ - میانگین مربعات منابع مختلف تغییر در تجزیه واریانس صفات آناتومی برگ در اسپرس زراعی..... ۸۴
- جدول ۳-۲۷ - مقایسه میانگین صفات قطر دهانه آوند چوب، قطر آوند چوب و قطر بافت استحکامی برگ در برخی ارقام اسپرس زراعی..... ۸۴
- جدول ۳-۲۸ - مقایسه گروهی صفات اندازه بذر، اندازه لگوم و آناتومی برگ جمعیت‌های اسپرس زراعی داخلی و خارجی..... ۸۵
- جدول ۳-۲۹ - بررسی صفات مرتبط با خار در برخی از گونه‌های جنس *Onobrychis*..... ۸۷
- جدول ۳-۳۰ - بررسی صفات مرتبط با کرک، نوع لگوم، نوع تخمدان، تب بذر و رنگ بذر در برخی از گونه‌های جنس *Onobrychis*..... ۹۰
- جدول ۳-۳۱ - بررسی صفت شکل بذر در برخی از گونه‌های جنس *Onobrychis*..... ۹۱

- جدول ۳-۳۲ - تعاریف تزئینات پوسته بذر جنس اسپرس ۹۲
- جدول ۳-۳۳ - بررسی صفت تزئینات پوسته بذر در برخی از گونه‌های جنس *Onobrychis* ۹۳
- جدول ۳-۳۴ - میانگین مربعات منابع مختلف تغییر در تجزیه واریانس صفات اندازه لگوم و اندازه بذر در برخی از گونه‌های جنس اسپرس ۹۴
- جدول ۳-۳۵ - بررسی صفات مرتبط با اندازه بذر در برخی از گونه‌های جنس *Onobrychis* ۹۴
- جدول ۳-۳۶ - بررسی ویژگی‌های لگوم در برخی از گونه‌های جنس *Onobrychis* ۹۵
- جدول ۳-۳۷ - مقادیر ضرایب تشابه (بالای قطر) و تفاوت (پایین قطر) ۴ بخش جنس اسپرس با روش نی ولی ۱۰۱

فهرست اشکال

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۱- سطوح مختلف تنوع و فاکتورهای موثر بر آن ۱۰
- شکل ۱-۲- شکل شماتیک آغازگر 8 (AG) در تکنیک ISSR (a) این آغازگر فاقد لنگر بوده و به دلیل لغزش با باندهای اسمیر همراه می‌باشد. b و c) دارای لنگر دو نوکلئوتیدی به ترتیب در ناحیه ۳ و ۵ بوده و فقط در ناحیه خاص گسترش یافته و باندهای واضح ایجاد می‌کند..... ۱۵
- شکل ۲-۳- DNA استخراج شده از برگ اسپرس به روش تغییر یافته موری و تامسون بر روی ژل آگارز ۰/۷ درصد..... ۲۶
- شکل ۳-۱ - مقایسه میانگین چین‌ها برای صفات تعداد روز تا گل‌دهی (الف)، ارتفاع (ب) و تعداد ساقه در بوته (پ) برای ارقام اسپرس..... ۵۱
- شکل ۳-۲ - مقایسه میانگین چین‌ها برای صفات عملکرد خشک در واحد سطح (شکل ت)، عملکرد تر در واحد سطح (شکل ج) و درصد ساقه (شکل چ) برای ارقام اسپرس..... ۵۲
- شکل ۳-۳ - مقایسه میانگین چین‌ها برای صفات درصد برگ (شکل ح)، نسبت برگ به ساقه (شکل خ) برای رقم‌های اسپرس..... ۵۳
- شکل ۳-۴ - مقایسه میانگین سال‌ها برای صفات عملکرد علوفه‌تر و خشک (شکل الف) و درصد برگ، ساقه و ماده خشک (شکل ب)..... ۵۴
- شکل ۳-۵ - نمودار خوشه‌ای به روش ward بر اساس صفات مورفولوژی و زراعی در ۵۶ رقم داخلی و خارجی اسپرس..... ۶۲
- شکل ۳-۶ - نمودار حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس صفات زراعی و مورفولوژی بر روی ۵۶ رقم اسپرس..... ۶۴
- شکل ۳-۷ - نمودار پراکنش ضرایب همبستگی کوفتیک UPGMA و Complete linkage در برابر یکدیگر در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام اسپرس با نشانگر ISSR ($r=95\%$)..... ۶۸
- شکل ۳-۸ - گروه‌بندی ۷۵ رقم اسپرس زراعی بر اساس نشانگر ISSR با استفاده از ضریب تشابه Jaccard و الگوریتم Complete linkage..... ۷۳
- شکل ۳-۹ - گروه‌بندی ۴۱ رقم ایرانی اسپرس زراعی بر اساس نشانگر ISSR با استفاده از ضریب تشابه Jaccard و الگوریتم Complete linkage..... ۷۴
- شکل ۳-۱۰ - گروه‌بندی ۳۴ رقم خارجی اسپرس زراعی بر اساس نشانگر ISSR با استفاده از ضریب تشابه Jaccard و الگوریتم Complete linkage..... ۷۵
- شکل ۳-۱۱ - نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی متعادل (PCoA) در ۷۵ رقم زراعی اسپرس بر اساس نشانگر ISSR..... ۷۶
- شکل ۳-۱۲ - نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی متعادل (PCoA) در ۴۱ رقم ایرانی زراعی اسپرس بر اساس نشانگر ISSR..... ۷۷
- شکل ۳-۱۳ - نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی متعادل (PCoA) در ۳۴ رقم خارجی اسپرس زراعی بر اساس نشانگر ISSR..... ۷۸

شکل ۳-۱۴- گروهبندی ۸ منطقه جغرافیایی در مطالعه تنوع ژنتیکی ارقام اسپرس زراعی با استفاده از ضریب تفاوت Ni&Li و الگوریتم..... ۸۱

شکل ۳-۱۵- مورفولوژی بذر در جنس اسپرس. ۱) تیپ *O. beata* (۲) تیپ *O. ornata* (۳) تیپ *O. radiata* (۴) تیپ *O. viciifolia* (a) خارهای مخروطی حاشیه، (b) رگ های کناری، (c) مرز، (d) رگ های زیر حاشیه ای، (e) تیغه، (f) عرض صفحه دوم، (g) عرض صفحه اول، (h) صفحه (f+g)، (i) خارهای صفحه، (j) خارهای حاشیه پستی، (k) خار های حاشیه جلویی ۸۸

شکل ۳-۱۶- گروهبندی ۳۳ گونه از جنس *Onobrychis* بر اساس خصوصیات بذری با استفاده از ضریب تشابه Jaccard و الگوریتم Complete linkage..... ۹۹

شکل ۳-۱۷- نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی (PCA) ۳۳ گونه جنس *Onobrychis* بر اساس خصوصیات بذری..... ۱۰۰

شکل ۳-۱۸- گروهبندی ۴ بخش جنس اسپرس بر اساس خصوصیات بذری با استفاده از ضریب تفاوت Ni&Li و الگوریتم UPGMA..... ۱۰۱

چکیده

اسپرس از جمله گیاهان مرتعی و زراعی است که به دلیل ویژگی‌های مطلوب بویژه تحمل به تنش‌ها در کشور مورد توجه می‌باشد. علی‌رغم اینکه اسپرس پراکنش جغرافیایی وسیعی در کشور دارد، مطالعات در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی آن و تعیین قرابت نمونه‌های داخلی و خارجی اندک بوده و هیچ گزارشی در مورد کاربرد نشانگرهای مولکولی در این زمینه نیز وجود ندارد. این پژوهش با هدف بررسی جنبه‌های پایه به نژادی در اسپرس با بهره‌گیری از روش‌های کلاسیک، مولکولی و گیاهشناسی در قالب ۳ آزمایش مجزا طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۹۰ به اجرا درآمد. در مطالعه اول به بررسی تنوع ژنتیکی بین ۵۶ نمونه (۴۶ رقم داخلی و ۱۰ رقم خارجی) اسپرس زراعی از طریق ویژگی‌های مورفولوژیک و بهره‌گیری از روش‌های چند متغیره آماری پرداخته شد. نتایج حاکی از وجود تنوع بسیار بالا در ژرم پلاسم مورد مطالعه بود. نمونه‌های داخلی در مقایسه با ارقام خارجی از عملکرد بالاتری برخوردار بودند. صفات ارتفاع، تعداد ساقه در بوته، تعداد ساقه در واحد سطح، تعداد گرده در ساقه از وراثت پذیر عمومی بالایی برخوردار بودند، که حاکی از نقش عمده ژن‌ها در کنترل این صفات می‌باشد. تجزیه خوشه‌ای توانست ارقام داخلی و خارجی را به خوبی از یکدیگر جدا کند و در بسیاری از موارد نمونه‌هایی با منشأ یکسان در کنار یکدیگر قرار گرفتند. نتایج حاصل از رگرسیون مرحله‌ای برای صفات عملکرد علوفه خشک و میزان خوش خوراکی علوفه نشان داد که تعداد ساقه و ارتفاع بیشترین تغییرات را برای این دو صفت توجیه می‌کنند. در آزمایش دوم با استفاده از ۲۲ آغازگر ISSR به بررسی تنوع ژنتیکی ۷۵ نمونه (شامل ۴۱ رقم داخلی و ۳۴ رقم خارجی) پرداخته شد. این آغازگرها در مجموع ۲۳۹ باند چند شکل تولید نمودند. نتایج نشان داد که تنوع زیادی بین ارقام مورد مطالعه وجود دارد، با این وجود تنوع بین ارقام خارجی نسبت به ارقام داخلی کمتر بود. نتایج تجزیه خوشه‌ای توانست ارقام داخلی و خارجی را به خوبی از یکدیگر جدا کند و هر گروه را به ۴ زیر گروه تفکیک نماید. نمودار خوشه‌ای تطابق بالایی با پراکنش جغرافیایی ارقام مورد مطالعه داشت به طوری که هر گروه عمدتاً شامل نمونه‌هایی از مناطق جغرافیایی مشترک بود. نتایج حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز گروه‌بندی نمونه‌ها را تایید کرد. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بین نواحی جغرافیایی نشان داد که اکثر واریانس ژنتیکی بین ارقام و بخش کمتری بین نواحی جغرافیایی وجود داشت. نتایج این تحقیق حاکی از همبستگی متوسط (۵۰ درصدی) بین نمودار خوشه‌ای حاصل از داده‌های مورفولوژیک با داده‌های نشانگر ISSR بود. با این وجود استفاده از نشانگر مولکولی ISSR در مقایسه با داده‌های مورفولوژی بهتر توانست قرابت بین ارقام اسپرس مورد بررسی را تعیین کند که حاکی از کارایی این نشانگر در تمایز بین نمونه‌های اسپرس است. در آزمایش سوم روابط بین ۳۳ گونه از جنس اسپرس بر اساس ویژگی‌های لگوم و بذر بررسی شد. نتایج حاکی از شباهت بالا بین بخش‌های *Onobrychis*، *Helionrychis* و *Lophobrychis* بود. از طرفی قرار گرفتن گونه *O. pulchella* در کنار بخش *Hymenobrychis* حاکی از شباهت بیشتر این گونه به این بخش می‌باشد. نتایج گروه‌بندی ۴ بخش مورد مطالعه در این تحقیق حاکی از عدم تایید زیر جنس‌های *Onobrychis* و *Sisyrosema* بود. علاوه بر آن نتایج حاکی از شباهت بالای گونه‌های *O. inermis montana* و *O. cyri-grossh* به گونه زراعی جنس اسپرس (*O. viciifolia*) می‌باشد که می‌توان در اصلاح گونه زراعی با استفاده از تلاقی بین گونه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: اسپرس، آناتومی، قرابت ژنتیکی، مارکر مولکولی، مورفولوژی، فیلوژنی

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع

۱-۱ مقدمه

نیاز به افزایش تولیدات کشاورزی توام با افزایش بازدهی و پایداری اکوسیستم های زراعی جهت امنیت غذایی پایدار در سطوح مختلف ملی، منطقه‌ای و جهانی از مهمترین چالش های بشریت به شمار می رود. در رویارویی با این چالش مهم، بهره برداری مؤثر از تنوع ژنتیک گیاهی به عنوان یک راهکار کلیدی برای ایجاد پایداری بلند مدت در سیستم های تولید در کشاورزی از طرف جامعه جهانی پذیرفته شده است. افزایش و پایداری تولید در گرو ایجاد و بکارگیری ارقام گیاهی برتر با پایه ژنتیکی وسیع و دارای سازگاری بالا به شرایط متغیر اکولوژیک می باشد [۲۸].

منابع ژنتیکی گیاهی نقش به سزایی در ایجاد ارقام مقاوم به آفات و بیماری ها، تنش های زنده و غیر زنده و افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی بر عهده دارد. به همین منظور حفظ، نگهداری، ارزیابی و بهره برداری از این منابع ارزشمند در اصلاح نباتات بسیار حائز اهمیت می باشد. در این میان توده ها و ارقام بومی به دلیل سازگاری طولانی مدت به شرایط محیطی متنوع و دارا بودن ژن های ارزشمند بیش از سایر منابع ژنی مورد توجه هستند. در این راستا حفظ و نگهداری، شناسایی و ارزیابی خصوصیات این ذخایر توارثی در تدوین برنامه های اصلاحی بسیار مفید می باشد. پس از جمع آوری ژرم پلاسما، تجزیه و تحلیل دقیق تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسما موجود امکان طبقه بندی و توصیف دقیق نمونه ها را فراهم آورده و اصلاحگر را در شناسایی زیر مجموعه ها و نمونه هایی که امکان استفاده مؤثر آنها در برنامه های اصلاحی آتی وجود دارد، یاری می کند [۱۳۵]. در صورتی که از روش های مؤثر برای تجزیه و تحلیل دقیق تنوع ژنتیکی استفاده گردد، علاوه بر

حصول برآورد دقیق از میزان تنوع بین و درون نمونه‌ها، والدین متنوع برای ایجاد نتاج متفرق که دارای حداکثر تنوع برای انتخاب‌های بعدی، و استفاده در دیگر برنامه‌های اصلاحی نظیر ایجاد ارقام ترکیبی، جوامع نقشه‌یابی ژن‌ها و غیره می‌باشند، نیز قابل شناسایی هستند. از طرفی امکان ادغام ژن‌های مطلوب از ژرم‌پلاسم‌های دیگر به ژرم‌پلاسم پایه فراهم می‌آید [۱۳۳].

گیاهان علوفه ای نه تنها در سطح زراعی تامین کننده بخشی از غذای احشام بوده، بلکه در سطح مرتعی نیز با تامین بخش عمده علوفه دام، حفظ حاصلخیزی خاک، جلوگیری از فرسایش آبی و بادی نقش بسیار مهمی را در اقتصاد کشور ایفا می‌کنند. برخی نباتات علوفه ای چند ساله بوده و در هر سال چند چین تولید می‌کنند که از نظر اقتصاد زراعی یک مزیت عمده محسوب می‌گردد، زیرا سبب صرفه جویی در هزینه‌های کاشت و بکارگیری ادوات کشاورزی می‌گردد [۱۱۶].

اسپرس با نام علمی *Onobrychis viciifolia* از جمله گیاهان علوفه‌ای است که نسبت به بسیاری از تنش‌ها بویژه شوری و خشکی متحمل بوده و در مقایسه با سایر گیاهان علوفه‌ای دارای ویژگی‌های مطلوبی از جمله: عدم ایجاد نفخ، مقاومت به چرا، مقاومت به سرخوردومی یونجه، و کیفیت مطلوب علوفه می‌باشد [۱۰۹]. در اکثر گیاهان علوفه‌ای، از جمله اسپرس برنامه‌ریزی جامعی در زمینه تحقیقات به‌نژادی انجام پذیرفته است. این در حالی است که ایران و ترکیه عمده‌ترین مراکز تنوع این گیاه محسوب می‌شوند و گونه‌های مختلفی از جنس *Onobrychis* در این مناطق پراکنده‌اند [۱۹۱]. از طرفی امکان بهره‌گیری از پتانسیل گونه‌های وحشی برای بهبود ویژگی‌های گونه‌های زراعی نیز بررسی نشده است. به همین منظور این پژوهش اهداف زیر را دنبال می‌کند:

بررسی تنوع ژنتیکی بین ارقام مختلف داخلی و خارجی اسپرس زراعی از طریق مطالعه ویژگی‌های مورفولوژیک، زراعی، گیاهشناسی و مولکولی (نشانگر ISSR) و مقایسه بین روش‌های مذکور.

مقایسه ارقام داخلی و خارجی از نظر تولید علوفه و خصوصیات ظاهری به منظور انتخاب ارقام مناسب برای مطالعات آتی

بررسی روابط بین متغیرها با استفاده از روش‌های چند متغیره آماری

بررسی روابط فیلوژنی بین گونه‌های اسپرس از نظر ویژگی‌های بذری

۱-۲- رده بندی اسپرس

اسپرس با نام علمی *Onobrychis viciifolia* Scop متعلق به خانواده بقولات بوده، که دارای بیش از ۱۰۰ گونه می باشد. موقعیت تاکسونومیکی این جنس به شرح زیر می باشد:

Class: Dicotyledoneae
 Subclass: Arcgichlamydeae
 Order: Rosales
 Sub order: Leguminoseae
 Family: Leguminoseae (Fabaceae)
 Sub family: Papilionatae
 Tribe: Hedysareae
 Genus: *Onobrychis*

فلورهای مختلف طبقه بندی‌های متفاوتی برای جنس اسپرس ذکر کرده‌اند که شامل:

۱- فلورا ایرانیکا [۱۵۳]: جنس اسپرس را به دو زیر جنس با تقسیمات فرعی به شرح زیر تقسیم کرده است:

A-Sub gen: *Onobrychis*
 Section:

- ۱- *Dendrobrychis*
- ۲- *Lophobrychis*
- ۳- *Onobrychis*
- ۴- *Laxiflorae*

B- Sub gen: *Sisyrosema*
 Section:

- ۱- *Anthyllium*
- ۲- *Afghanicae*
- ۳- *Heliobrychis*
- ۴- *Hymenobrychis*
- ۵- *Insignes*

۲- فلور ترکیه [۶۲]: این جنس را به ۵ بخش به شرح زیر تقسیم کرده است:

- ۱- *Dendrobrychis*
- ۲- *Lophobrychis*
- ۳- *Hymenobrychis*
- ۴- *Heliobrychis*