دانشکده علوم کشاورزی

گروه علوم باغبانی

(فیزیولوژی و اصلاح گیاهان زینتی)

عنوان:

بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی ارقام گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) و تجزیه ارتباط آنها با نشانگرهای مولکولی

از:

زینب روئین

استاد راهنما:

دکتر معظم حسن‌پور اصیل

استاد مشاور:

دکتر عاطفه صبوری

مهر ۱۳۹۲

تقدیم به

پدر عزیز و مادر مهربانم

دو فرشته‌ای که از خواسته‌هایشان گذشتند، سختی‌ها را به جان خریدند و خود را سپر بلای مشکلات و ناملایمات کردند تا من به جایگاهی که اکنون در آن ایستاده‌ام برسم.

پروردگار مهربانم، سپاس بی نهایت تورا که حتی لحظه ای نگاه مهربانت را از من دریغ نکرده ای، پروردگارا، عنایت و محبت تو در شادی ها، ناملایمات و سختی های راه تنها سرمایه و دلگرمی ام برای ادامه مسیر بوده و هست. اکنون تو را سپاس می گویم که توفیق انجام این مهم را به من عطا فرمودی و از تو می خواهم که همچون همیشه یاری ام کنی تا در مسیر رضایت تو قدم بردارم. به پاس این توفیق بزرگ، اکنون بر خود لازم می دانم به عزیزانی که در این راه دست یاری مرا به گرمی فشردند صمیمانه ترین درود ها را تقدیم کنم. بوسه می زنم بر دستان پدر عزیز و مادر مهربانم که همیشه از کمک ها و مساعدت های مادی و معنوی شان برخوردار بوده ام و این مهم در سایه لطف و محبت ایشان حاصل آمد. هم چنین از خواهران و برادران عزیزم که همواره مشوق و همراه من بوده اند، صمیمانه تشکر می کنم.

از استاد راهنمای بزرگوارم سرکار خانم دکتر معظم حسن پور اصیل که هیچ گاه کمک ها و مساعدت های خود را در طول دوره تحصیل و اجرای تحقیق از اینجانب دریغ ننمودند نهایت تشکر را دارم. هم چنین، از استاد مشاور محترم سرکار خانم دکتر عاطفه صبوری به پاس راهنمایی-های ارزشمند و کمک های بی دریغ شان تشکر و قدردانی می کنم.

برای اینجانب سعادت بزرگی است که داوری این رساله را سرکار خانم دکتر روح انگیز نادری، جناب آقای دکتر بابک ربیعی و جناب آقای دکتر محمود قاسم نژاد انجام دادند. از این که قبول زحمت فرمودند و رساله اینجانب را باز خوانی نمودند، نهایت سپاس و تشکر را دارم. از سرکار خانم دکتر صدیقه موسی نژاد به عنوان نماینده تحصیلات تکمیلی کمال تشکر را دارم.

از اساتید محترم گروه علوم باغبانی جناب آقای دکتر حاتم زاده، جناب آقای دکتر پیوست، جناب آقای دکتر فتوحی، جناب آقای دکتر حمید اوغلی، جناب آقای دکتر بخشی، جناب آقای دکتر قاسم نژاد، جناب آقای دکتر زکی زاده و جناب آقای دکتر الفتی که در طول تحصیل از راهنمایی های ارزنده شان بهره مند شدم، تشکر و قدردانی می کنم.

از همکاری صمیمانه مسئولین محترم آزمایشگاه های باغبانی، کشت بافت و مرکزی نهایت تشکر را دارم. هم چنین، از جناب آقای احمد رضا دادرس که با وجود مشغله فراوان در اجرای تکنیک AFLP نهایت همکاری و مساعدت را با اینجانب داشتند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

تشکر ویژه خود را تقدیم دوست عزیز و مهربانم سرکار خانم شیرین رضوانی پور می نمایم که با وجود مشغله فراوان همواره گوش شنوایی برای شنیدن مشکلات اینجانب و یاری گر من در تمام مراحل انجام رساله بودند. آرزو مند بهترین ها در زندگی برایشان هستم.

به تمامی دوستان خوبم که در این مدت از هیچ محبتی دریغ ننمودند، به ویژه سرکار خانم پرستو مرادی، سرکار خانم انسیه قربانی و سرکار خانم ملیحه دباغیان نهایت سپاس را تقدیم می کنم. در پایان در برابر همه کسانی که مرا مورد لطف و محبت خود قرار داده و نامی از آنها نبرده و نشد سر تعظیم فرود می آورم.

زینب روئین

مهر ۱۳۹۲ خورشیدی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی..... ر
چکیده انگلیسی ..... س
مقدمه..... ۱
فصل اول ۴
کلیات و مرور منابع ۴
۱-۱- تاریخچه گل داوودی ۵
۱-۲- مشخصات گیاه‌شناسی ۵
۱-۲-۱- گونه‌ها ۵
۱-۲-۲- طبقه‌بندی..... ۶
۱-۳- اهمیت اقتصادی ۶
۱-۴- اهمیت دارویی..... ۷
۱-۵- وضعیت تولید ۷
۱-۶- ازدیاد ۸
۱-۶-۱- بذر..... ۸
۱-۶-۲- قلمه ۹
۱-۶-۳- تقسیم بوته ۱۰
۱-۶-۴- ریزازدیادی ۱۰
۱-۷- رشد و گلدهی ۱۰
۱-۷-۱- عوامل ژنتیکی..... ۱۰
۱-۷-۲- عوامل محیطی..... ۱۰
۱-۷-۲-۱- نور و طول روز ۱۰
۱-۷-۲- ۲- درجه حرارت ۱۲
۱-۷-۲-۳- بستر کشت..... ۱۵
۱-۷-۲-۴- ترکیب هوا و رطوبت..... ۱۵
۱-۸- اصلاح و بهبود خصوصیات گیاه ۱۵
۱-۸-۱- صفات مورفولوژیک ۱۵
۱-۸-۲- صفات بیوشیمیایی ۱۹
۱-۸-۲-۱- عوامل مؤثر بر کیفیت بعد از برداشت گیاهان زینتی ۱۹
۱-۸-۲-۲- پیری گل ۲۱

۱-۸-۲-۳- شاخص‌های فیزیولوژیک مؤثر بر ماندگاری گل ۲۳
۱-۸-۳- ویژگی‌های مولکولی ۲۹
۱-۸-۳-۱- نشانگرهای مولکولی ۲۹
۱-۸-۳-۲- تکنیک AFLP ۳۰
۱-۸-۳-۳- الکتروفورز ۳۲
۱-۸-۳-۴- مروری بر کارهای انجام شده ۳۴
۱-۸-۴- ساختار جمعیت و تجزیه ارتباط ۳۶
۱-۸-۴-۱- ساختار جمعیت ۳۶
۱-۸-۴-۲- تجزیه ارتباط ۳۷
فصل دوم ۴۷
مواد و روش‌ها ۴۷
۲-۱- ارزیابی صفات مورفولوژیک ۴۲
۲-۱-۱- پرورش گیاهان مادری ۴۲
۲-۱-۲- قلمه‌گیری و شرایط پرورش برای گلدهی ۴۴
۲-۱-۳- ارزیابی خصوصیات ریشه‌زایی ۴۵
۲-۱-۴- ارزیابی صفات مورفولوژیک بوته و گل ۴۵
۲-۱-۵- ارزیابی صفات فنولوژیک و ماندگاری گل ۴۵
۲-۱-۶- تجزیه داده‌ها ۴۶
۲-۲- ارزیابی صفات بیوشیمیایی ۴۷
۲-۲-۱- میزان کلروفیل برگ‌ها ۴۷
۲-۲-۲- میزان آنتوسیانین گلبرگ ۴۸
۲-۲-۳- میزان کاروتنوئید گلبرگ ۴۹
۲-۲-۴- مواد جامد محلول ۴۹
۲-۲-۵- پیری گل ۴۹
۲-۲-۶- سنجش غلظت پروتئین ۵۰
۲-۲-۷- ارزیابی میزان مالون‌دی‌آلدئید گلبرگ ۵۱
۲-۲-۸- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ۵۲
۲-۲-۹- سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ۵۲
۲-۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها ۵۳
۲-۳- ارزیابی ویژگی‌های مولکولی ۵۴
۲-۳-۱- تهیه محلول‌های پایه ۵۴
۲-۳-۲- استخراج DNA ژنومی ۵۵

۲-۳-۳- تعیین کیفیت DNA ۵۷
۲-۳-۴- اجرای روش AFLP ۵۸
۲-۳-۴-۱- رقیق‌سازی آغازگرها ۵۸
۲-۳-۴-۲- هضم DNA ژنومی ۵۹
۲-۳-۴-۳- دو رشته‌ای کردن سازگارسازها ۶۰
۲-۳-۴-۴- اتصال سازگارسازها به DNAهای هضم شده ۶۰
۲-۳-۴-۵- پیش‌تکثیر ۶۱
۲-۳-۴-۶- تکثیر انتخابی ۶۱
۲-۳-۵- ژل پلی اکریل‌آمید و الکتروفورز عمودی ۶۲
۲-۳-۵-۱- روش تهیه ژل پلی اکریل‌آمید شش درصد ۶۲
۲-۳-۵-۲- تیمار شیشه‌های دستگاه الکتروفورز عمودی ۶۲
۲-۳-۵-۳- آماده‌سازی ژل، تزریق و پیش‌ران ۶۳
۲-۳-۵-۴- واسرشته‌سازی و بارگذاری نمونه‌های تکثیر انتخابی ۶۳
۲-۳-۵-۵- رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات نقره ۶۴
۲-۳-۷- تجزیه و تحلیل اطلاعات DNA ۶۵
۲-۳-۷-۱- تعداد نوار ۶۵
۲-۳-۷-۲- درصد چندشکلی ۶۶
۲-۳-۷-۳- میزان اطلاعات چندشکل (PIC) ۶۶
۲-۳-۷-۴- شاخص اطلاعاتی شانون (I) ۶۶
۲-۳-۷-۵- نسبت چندگانه مؤثر (EMR) ۶۶
۲-۳-۷-۶- شاخص نشانگری (MI) ۶۶
۲-۳-۷-۷- تعداد آلل مشاهده شده (Na) ۶۶
۲-۳-۷-۸- تعداد آلل مؤثر (Ne) ۶۶
۲-۳-۷-۹- تنوع ژنی نی (H) ۶۷
۲-۳-۷-۱۰- تجزیه خوشه‌ای ۶۷
۲-۳-۷-۱۱- تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) ۶۷
۲-۳-۷-۱۲- آزمون مانتل ۶۷
۲-۴- ارزیابی ساختار جمعیت و تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی با نشانگرهای AFLP ۶۸
فصل سوم ۷۰
نتایج و بحث ۷۰
۳-۱- ارزیابی صفات مورفولوژیک ۷۱
۳-۱-۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک ۷۱

۳-۱-۱-۱- خصوصیات ریشه‌زایی ۷۱
۳-۱-۱-۲- صفات مورفولوژیک بوته و گل ۷۱
۳-۱-۱-۳- ویژگی‌های فنولوژیک و ماندگاری گل ۷۱
۳-۱-۲- دامنه تنوع و وراثت‌پذیری عمومی ۷۵
۳-۱-۲-۱- دامنه تنوع و وراثت‌پذیری عمومی خصوصیات ریشه‌زایی ۷۵
۳-۱-۲-۲- دامنه تنوع و وراثت‌پذیری عمومی صفات مورفولوژیک بوته و گل ۷۵
۳-۱-۲-۳- دامنه تنوع و وراثت‌پذیری عمومی ویژگی‌های فنولوژیک و ماندگاری گل ۷۷
۳-۱-۳- مقایسه میانگین صفات ۷۸
۳-۱-۳-۱- خصوصیات ریشه‌زایی ۷۸
۳-۱-۳-۲- صفات مورفولوژیک بوته و گل ۷۹
۳-۱-۳-۳- ویژگی‌های فنولوژیک و ماندگاری گل ۸۲
۳-۱-۴- ضرایب همبستگی فنوتیپی ساده صفات ۸۴
۳-۱-۴-۱- همبستگی فنوتیپی بین خصوصیات ریشه‌زایی ۸۴
۳-۱-۴-۲- همبستگی فنوتیپی بین خصوصیات مورفولوژیک بوته و گل ۸۴
۳-۱-۴-۳- همبستگی فنوتیپی بین ویژگی‌های فنولوژیک و ماندگاری گل ۸۶
۳-۱-۴-۴- همبستگی فنوتیپی بین ویژگی‌های فنولوژیک و ماندگاری گل با خصوصیات بوته و گل ۸۶
۳-۱-۵- تجزیه رگرسیون چند متغیره گام به گام ۸۷
۳-۱-۶- تجزیه خوشه‌ای ۸۹
۳-۱-۷- نتیجه‌گیری کلی ۹۲
۳-۱-۸- پیشنهادها ۹۳
۳-۲- ارزیابی صفات بیوشیمیایی ۹۴
۳-۲-۱-تجزیه واریانس، دامنه تغییرات و مقایسه میانگین ۹۴
۳-۲-۱-۱- میزان کلروفیل برگ‌ها ۹۴
۳-۲-۱- ۲- میزان رنگیزه (آنتوسیانین و کاروتنوئید) گلبرگ‌ها ۹۶
۳-۲- ۱-۳- مواد جامد محلول ۹۷
۳-۲-۱-۴- پیری ۹۷
۳-۲-۱-۵- سنجش پروتئین ۹۸
۳-۲-۱-۶- میزان مالون‌دی‌آلدئید ۹۸
۳-۲-۱-۷- فعالیت آنزیم کاتالاز ۹۹
۳-۲-۱-۸- فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ۱۰۰
۳-۲-۲- ضرایب همبستگی ساده بین صفات ۱۰۰
۳-۲-۳- تجزیه رگرسیون گام به گام ۱۰۱

۳-۲-۴- تجزیه خوشه‌ای ۱۰۲
۳-۲- ۵- نتیجه‌گیری کلی ۱۰۴
۳-۲-۶- پیشنهادها ۱۰۴
۳-۳- ارزیابی ویژگی‌های مولکولی ۱۰۵
۳-۳-۱- شاخص‌های تنوع نشانگرهای AFLP ۱۰۵
۳-۳-۱-۱- چندشکلی ۱۰۵
۳-۳-۱-۲- میزان اطلاعات چندشکل ۱۰۷
۳-۳-۱-۳- شاخص اطلاعاتی شانون ۱۰۸
۳-۳-۱-۴- شاخص نشانگری ۱۰۸
۳-۳-۱-۵- تنوع ژنی نی ۱۰۹
۳-۳-۱-۶- تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر ۱۰۹
۳-۳-۲- همبستگی بین شاخص‌های تنوع ۱۱۱
۳-۳-۳- تجزیه خوشه‌ای ۱۱۱
۳-۳-۴- تجزیه به مختصات اصلی ۱۱۴
۳-۳-۵- مقایسه شباهت داده‌های مولکولی با داده‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی ۱۱۵
۳-۳-۶- نتیجه‌گیری کلی ۱۱۶
۳-۳-۷- پیشنهادها ۱۱۷
۳-۴- ارزیابی ساختار جمعیت و تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی با نشانگرهای AFLP ۱۱۸
۳-۴-۱- ساختار جمعیت ۱۱۸
۳-۴-۲- تجزیه ارتباط ۱۲۱
۳-۴-۲-۱- ارتباط بین نشانگرهای AFLP و خصوصیات ریشه‌زایی ۱۲۱
۳-۴-۲-۲- ارتباط بین نشانگرهای AFLP و خصوصیات مورفولوژیک بوته ۱۲۳
۳-۴-۲-۳- ارتباط بین نشانگرهای AFLP و صفات مورفولوژیک و فنولوژیک گل ۱۲۶
۳-۴-۲-۴- ارتباط بین نشانگرهای AFLP و خصوصیات بیوشیمیایی ۱۳۲
۳-۴-۳- نتیجه‌گیری کلی ۱۳۹
۳-۴-۴- پیشنهادها ۱۴۰
فهرست منابع ۱۴۱

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- مقایسه جایگاه وضعیت فروش گل‌های بریدنی و گلدانی در سال ۲۰۱۲ ..... ۸
جدول ۲-۱- اسامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گل داوودی ۴۳
جدول ۲-۲- توالی آغازگرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر ۵۹
جدول ۲-۳- مخلوط واکنش برای انجام هضم DNA ژنومی ۱۵۲
جدول ۲-۴- توالی سازگارسازها دو آنزیم برشی و مخلوط واکنش برای دو رشته‌ای کردن آنها ۱۵۲
جدول ۲-۵- برنامه دمایی دو رشته‌ای کردن سازگارسازها ۱۵۲
جدول ۲-۶- اجزاء واکنش برای اتصال سازگارسازها به DNA هضم شده ۱۵۲
جدول ۲-۷- برنامه دمایی برای اتصال سازگارسازها به DNA برش خورده ۱۵۳
جدول ۲-۸- توالی آغازگرهای بدون نوکلئوتید اضافی استفاده شده در مرحله پیش‌تکثیر ۱۵۳
جدول ۲-۹- اجزای واکنش به منظور انجام پیش‌تکثیر ۱۵۳
جدول ۲-۱۰- برنامه دمایی مرحله پیش‌تکثیر DNA ۱۵۴
جدول ۲-۱۱- مخلوط واکنش تکثیر انتخابی ۱۵۴
جدول ۲-۱۲- برنامه دمایی برای تکثیر انتخابی آغازگرها ۱۵۴
جدول ۳-۲- تجزیه واریانس خصوصیات مورفولوژیک بوته در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۷۲
جدول ۳-۳- تجزیه واریانس خصوصیات مورفولوژیک گل در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۷۳
جدول ۳-۴- تجزیه واریانس ویژگی‌های فنولوژیک و ماندگاری گل ۷۴
جدول ۳-۵- دامنه تغییرات و ضرایب تنوع فنوتیپی، ژنوتیپی و وراثت‌پذیری عمومی خصوصیات ریشه‌زایی ۱۵۵
جدول ۳-۶- دامنه تغییرات و ضرایب تنوع فنوتیپی، ژنوتیپی و وراثت‌پذیری عمومی خصوصیات مورفولوژیک بوته ۱۵۵
جدول ۳-۷- دامنه تغییرات و ضرایب تنوع فنوتیپی، ژنوتیپی و وراثت‌پذیری عمومی خصوصیات مورفولوژیک گل ۱۵۶
جدول ۳-۱۳- ضریب همبستگی خصوصیات ریشه‌زایی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۱۶۴
جدول ۳-۱۴- ضریب همبستگی صفات مورفولوژیک بوته در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۱۶۵
جدول ۳-۱۵- ضریب همبستگی صفات مورفولوژیک گل در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۱۶۶
جدول ۳-۱۶- ضریب همبستگی صفات فنولوژیک گلدهی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۱۶۷
جدول ۳-۱۷- ضریب همبستگی صفات مورفولوژیک بوته و گل در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۱۶۸
جدول ۳-۱۸- ضریب همبستگی صفات مورفولوژیک بوته و فنولوژی گلدهی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۱۶۹
جدول ۳-۱۹- ضریب همبستگی صفات مورفولوژیک گل و فنولوژی گلدهی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۱۷۰
جدول ۳-۲۰- خلاصه تجزیه رگرسیون گام به گام برای صفات مورفولوژیک ۱۷۱
جدول ۳-۲۱- تجزیه واریانس خصوصیات بیوشیمیایی بعد از برداشت ژنوتیپ‌های مختلف گل داوودی ۹۵
جدول ۳-۲۲- آماره‌های توصیفی مرتبط با صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه ۱۷۱
جدول ۳-۲۳- مقایسه میانگین خصوصیات بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۱۷۲

جدول ۳-۲۴- ضرایب همبستگی بین صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه ۱۷۴
جدول ۳-۲۵- خلاصه تجزیه رگرسیون گام به گام برای پیری گل بعد از برداشت..... ۱۷۵
جدول ۳-۲۷- همبستگی بین شاخص‌های تنوع حاصل از ترکیب آغازگرهای مورد استفاده ۱۷۵
جدول ۳-۲۸- ماتریس فاصله ۴۸ ژنوتیپ گل داوودی بر مبنای ضریب جاکارد..... ۱۷۶
جدول ۳-۲۹- میزان عضویت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در گروه‌های مختلف..... ۱۷۷
جدول ۳-۳۰- تعداد نشانگرهای معنی‌دار و مرتبط با صفات مورفولوژیک در دو مدل MLM و GML ۱۷۸
جدول ۳-۳۱- تعداد نشانگرهای معنی‌دار و مرتبط با صفات بیوشیمیایی در دو مدل MLM و GML ۱۷۸
جدول ۳-۳۲- نشانگرهای AFLP مرتبط با خصوصیات ریشه‌زایی در گل داوودی با استفاده از مدل MLM..... ۱۷۹
جدول ۳-۳۳- نشانگرهای AFLP مرتبط با خصوصیات مورفولوژیک بوته در داوودی با استفاده از مدل MLM ۱۸۰
جدول ۳-۳۴- نشانگرهای AFLP مرتبط با خصوصیات مورفولوژیک و فنولوژیک گلدهی..... ۱۸۳
جدول ۳-۳۵- نشانگرهای AFLP مرتبط با خصوصیات بیوشیمیایی در گل داوودی با استفاده از مدل MLM ۱۸۸

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- تقویم فصلی رشد و گلدهی در گل داوودی ۱۲
شکل ۱-۲- نمای کلی از روش AFLP ۳۲
شکل ۱-۳- پلیمریزاسیون اکریل‌آمید برای تشکیل ژل پلی‌اکریل‌آمید ۳۴
شکل ۳-۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای مربوط به گروه‌بندی ژنوتیپ‌های داوودی با استفاده از صفات مورفولوژیک ۹۱
شکل ۳-۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گل داوودی با استفاده صفات بیوشیمیایی ۱۰۳
شکل ۳-۳- نیم‌رخ ژل پلی‌اکریل‌آمید شش درصد ۱۰۷
شکل ۳-۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۴۸ ژنوتیپ گل داوودی ۱۱۳
شکل ۳-۵-نمودار پراکنش ۴۸ ژنوتیپ گل داوودی در دو مؤلفه اصلی ۱۱۴
شکل ۳-۶- مقادیر دلتا K در هر کدام از مدلها و تعیین بهترین خوشه K..... ۱۱۹
شکل ۳-۷- ساختار جمعیت ۴۸ ژنوتیپ مورد مطالعه داوودی با تعداد خوشه K=۴ ..... ۱۲۰

چکیده

بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی ارقام گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) و تجزیه ارتباط آنها با نشانگرهای مولکولی

زینب روئین

گل داوودی یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی است که علاوه بر گل بریدنی، به عنوان گیاه گلدانی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاربردهای متعدد این گل در زندگی امروزی نیاز به یک برنامه اصلاحی برای افزایش تولید را سبب شده است. در این پژوهش، تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و تجزیه ارتباط ۴۸ ژنوتیپ گل داوودی توسط صفات مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی با استفاده از نشانگر AFLP مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها تمام صفات مورفولوژیک مورد بررسی به‌جز زمان ریزش گرده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیش‌ترین ضریب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی (بیش‌تر از ۳۰ درصد) مربوط به تعداد گلچه زبانه‌ای، تعداد گلچه لوله-ای، تعداد گل روی بوته، تعداد دستک، طول دمبرگ، تعداد برگ روی دمگل و تعداد روز تا مشاهده جوانه گل بود. بیش-ترین درصد وراثت‌پذیری عمومی مربوط به زمان مشاهده جوانه گل، تعداد گلچه زبانه‌ای، طول ساقه و طول دمبرگ بود (بیش از ۸۰٪). از طرف دیگر کم‌ترین مقدار وراثت‌پذیری عمومی در صفت زمان باز شدن گلچه‌های لوله‌ای با ۳/۰۹ درصد مشاهده شد که این امر نشان از سهم بیشتر عوامل محیطی نسبت به ژنتیک در بروز تنوع و تغییرات فنوتیپی است. در تجزیه رگرسیون گام به گام برای صفت ماندگاری گلدانی به عنوان متغیر وابسته، هفت صفت ماندگاری گل روی بوته، طول گلچه زبانه‌ای، زمان پایان گرده‌افشانی، تعداد گل روی بوته، تعداد برگچه روی دمگل، قطر گل و زمان شکوفایی کامل وارد مدل شدند و مجموعاً ۸۳/۳ درصد از تنوع فنوتیپی ماندگاری گلدانی را توجیه نمودند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از صفات مذکور برای شناسایی و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر داوودی می‌تواند مفید باشد. تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مورفولوژیک به روش حداقل واریانس وارد، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را به چهار گروه تقسیم نمود. از طرف دیگر به منظور بررسی تنوع بیوشیمیایی بین ژنوتیپ‌های داوودی، رفتار فیزیولوژیک گلبرگ آنها بعد از برداشت و در زمان پیری مورد مطالعه قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌های بیوشیمیایی نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات مورد ارزیابی شامل میزان رنگیزه در برگ (کلروفیل) و گلبرگ (آنتوسیانین و کاروتنوئید)، فعالیت آنزیم کاتالاز، غلظت پروتئین، پراکسیداسیون لیپید و پیری تفاوت قابل ملاحظه‌ای (در سطح احتمال یک درصد) وجود دارد. تجزیه خوشه‌ای بر اساس تمام صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده، کل ژنوتیپ‌ها را به سه گروه تفکیک نمود که ژنوتیپ‌های گروه A با پیری دیرهنگام گلبرگ و وجود رنگیزه آنتوسیانین در گلبرگ متفاوت از بقیه ژنوتیپ‌ها بودند. در این پژوهش تعداد ۲۵ ترکیب آغازگر مبتنی بر آنزیم‌های برشی *Eco*RI و *Mse*I برای تجزیه مولکولی استفاده شد. به طور متوسط هر ترکیب آغازگری ۸۳/۹۶ نوار چندشکل تولید کرد که دامنه‌ای از ۳۳ تا ۱۲۲ نوار چندشکل را شامل شد. میانگین ۹۹/۳ درصد برای درصد چندشکلی، ۰/۴۳ محتوای اطلاعات چند شکل، ۰/۴۵شاخص اطلاعاتی شانون و شاخص نشانگری ۳۶/۷۶ نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی زیاد بین ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی بود. تجزیه خوشه‌ای صفات مولکولی بر اساس روش اتصال همسایگی و ضریب فاصله جاکارد، ژنوتیپ‌ها را به شش گروه تقسیم کرد. تغییرات ضریب فاصله جاکارد بین ۰/۴۶ تا ۰/۹۰ نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بالا بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود. از طرف دیگر همبستگی معنی‌داری بین صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی با نشانگرهای AFLP براساس آزمون مانتل مشاهده نشد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر در مجموع ۱۴ ترکیب آغازگری با میزان بالای درصد چندشکلی (۹۸/۹ درصد)، محتوای اطلاعات چندشکل (۰/۴۹) و شاخص نشانگری (۴۵/۱۷) به عنوان قدرتمندترین ترکیبات آغازگری جهت تمایز و تفکیک ژنوتیپ‌های داوودی شناسایی شدند، به‌طوری‌که می‌توان

انتظار داشت در پژوهش‌های بعدی با استفاده از این ترکیبات بتوان به اطلاعات بیشتری دست یافت. تجزیه ساختار جمعیت ۴ گروه را شناسایی نمود که در مجموع تعداد ۱۸ ژنوتیپ در ارزیابی ساختار جمعیت، به‌طور مجزا به چهار گروه منتسب شدند و بقیه ژنوتیپ‌ها (۳۰ ژنوتیپ) بین گروه‌های مذکور تداخل داشتند. از طرف دیگر با استفاده از نتایج تجزیه ارتباط برای ۶۴ متغیر شامل صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی در کل ۶۷۲ نشانگر مثبت و معنی‌دار شناسایی گردید. بیش‌ترین تعداد نشانگر معنی‌دار برای نسبت طول به عرض گلچه زبانه‌ای (۲۶ نشانگر) و کم‌ترین تعداد نشانگر (۲ نشانگر) برای صفت تعداد گلچه زبانه‌ای مشاهده شد. از طرف دیگر قوی‌ترین ارتباط (۶۸ درصد)، بین قطر جوانه گل و دو نشانگر M-MCAC/E-AAC39 و M-CTT/E-ACA1 برقرار بود. هم‌چنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت در ارتباط بودند. بنابراین نشانگرهای آگاهی بخش حاوی اطلاعات مفید مانند M-CTG/E-ACC16، M-CAC/E-AAG95، M-CAC/E-ACG5، M-CAG/E-AAG72 که همبستگی معنی‌داری با چندین صفت دارند، می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی داوودی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم کاتالاز، تعداد گلچه، تنوع ژنتیکی، پیری، داوودی، نشانگر AFLP، محتوای اطلاعات چند شکل

مقدمه

گلکاری یکی از بخش‌های مهم صنعت باغبانی است که به عنوان پرورش، تولید، توزیع و بازاریابی دامنه وسیعی از محصولات زینتی تعریف می‌شود. صنعت گیاهان زینتی که ترکیبی است از علوم هنر، طراحی و باغبانی، منجر به استفاده از طیف وسیعی از گونه‌ها و اندام‌های گیاهی برای اهداف زینتی شده است [Reid, 2012]. این صنعت از محصولاتی مانند قلمه‌های حاصل از گیاهان مادری شروع می‌شود و به محصول نهایی برای بازار شامل گل‌های بریدنی، گیاهان برگی، گیاهان گلدانی و باغچه‌ای، یکساله‌ها، چندساله‌ها، گل‌های پیازی و غده‌ای، درختان و درختچه‌ها ختم می‌گردد. محصولات زینتی با هدف زیباسازی، تزئین و بهبود فضای اطراف تولید می‌شوند [Chandler and Brugliera, 2011; Tanaka et al., 2005; Mou and Scorza, 2011]. در ۵۰ سال گذشته بازار گل‌های بریدنی به‌طور شگفت‌آوری از یک بازار محلی با پرورش‌دهندگانی در حومه شهر به یک بازار جهانی تغییر کرده است [Reid, 2012]. امروزه تولید محصولات زینتی یک صنعت جهانی است که با ارزش چند بیلیون دلاری به دنبال معرفی و توسعه گیاهان زینتی برای انسان است [Mou and Scorza, 2011]. پویایی این صنعت در تجارت به گونه‌ای است که حدود ۱۲۰ کشور فعالانه در این عرصه فعالیت دارند و اقتصاد برخی کشورها مانند هلند، کلمبیا، کنیا و غیره را کاملاً به خود وابسته کرده است [Van Hemert, 2005].

گیاهان گلدانی و بریدنی حدود ۸۰ درصد از تجارت جهانی تولیدات گیاهان زینتی را به خود اختصاص داده‌اند. از طرف دیگر واردات و صادرات گیاهان زینتی سالانه در حال افزایش است. اروپا بزرگ‌ترین واردکننده محصولات زینتی به حساب می‌آید در حالی‌که بازار آمریکای شمالی محل مصرف اصلی برای گل‌های بریدنی است. بزرگ‌ترین کشور صادر کننده محصولات زینتی با سهمی معادل ۶۰ درصد از صادرات جهانی هلند است. این در حالی است که آسیا سهم اندکی در تجارت بین‌المللی گیاهان زینتی دارد، به طوری‌که بیش‌تر تولیدات آن در همین قاره مصرف می‌شود و تنها تولید ارکیده‌ها در تایلند و محصولات بونسای در چین و ژاپن است که از موقعیت صادرات محدودی برخوردارند [Sheela, 2008]. بدین ترتیب اهمیت این بخش از باغبانی برای کشورهای در حال توسعه بر کسی پوشیده نیست. بنابراین لازمه توسعه آن معرفی و ارایه ارقام جدید مطابق با تقاضای مصرف‌کننده است.

باید توجه داشت که یکی از اهداف مهم این صنعت بهبود ویژگی‌های تولید مانند قابلیت تولید گل، یکنواختی در گلدهی، مقاومت به بیماری‌ها و آفات و هم‌چنین ماندگاری گل است. با این‌حال مورفولوژی گل، رنگ و عطر آن به عنوان اولین نشانگرهایی هستند که نقش کلیدی در انتخاب توسط مصرف‌کننده دارند. این صفات بیش‌ترین اهمیت را در هدایت

بازارهای گل دارند زیرا این ویژگی‌ها مستقیماً به‌وسیله مصرف‌کننده مورد ارزیابی قرار می‌گیرند [Tanaka et al., 2005; Lutken et al., 2012].

معرفی ارقام جدید فرآیندی طولانی و پیچیده است به طوری‌که پتانسیل ارقام مورد نظر از جهات مختلف بایستی شناسایی و سپس انتخاب صورت گیرد. شناخت روش‌های ازدیاد و توسعه رقم مربوطه، مطالعه فیزیولوژی رشد و گلدهی آن، شناخت فیزیولوژی پس از برداشت، عکس‌العمل گیاه به انتقال، جابه‌جایی و انبار همه بایستی قبل از انتخاب برای برنامه‌های اصلاحی به دقت مطالعه شود [Vainstein, 2002]. در راستای معرفی ارقام جدید به بازار گیاهان زینتی نیاز به برنامه‌های اصلاحی مدون به شدت احساس می‌شود. اولین قدم در اصلاح یک گیاه، شناسائی دقیق ساختار ژرم‌پلاسم آن گیاه است، به طوری که یکی از اجزاء ضروری هر برنامه اصلاحی که برای بهبود خصوصیات گیاهان زراعی طراحی می شود تنوع ژنتیکی است [فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۸]. در گذشته معرفی صفات جدید در گیاهان زینتی اساساً به اصلاح کلاسیک که ترکیبی از تلاقی و انتخاب است وابسته بود [Lutken et al., 2012]. به طور سنتی از صفات مورفولوژیک و خصوصیات ظاهری برای شناسایی تنوع ژرم‌پلاسم استفاده می‌شد. اما از آنجایی‌که همین صفات تحت تأثیر شرایط محیطی و فیزیولوژیکی قرار می‌گیرند، نتیجه‌گیری بر اساس آن‌ها کمتر قابل اطمینان است [Escandón et al., 2007]. از این‌رو پیشرفت‌های اخیر در ژنتیک سلولی و مولکولی و ابداع نشانگرهای مولکولی امیدهای تازه‌ای را برای به‌نژادگران به‌وجود آورده است. در طول دو دهه اخیر پیشرفت‌های چشم‌گیر در زمینه اصلاح نباتات مولکولی مخصوصاً فناوری نشانگرهای DNA، ابزارهای جدیدی را برای بالا بردن کارایی روش‌های اصلاحی فراهم نموده‌اند. یکی از مهم‌ترین کاربردهای این نشانگرها، ارزیابی تنوع ژنتیکی و پتانسیل ذخایر توارثی است [Nagata et al., 2005]. از سوی دیگر پیچیدگی صفات کمی، استفاده از روش‌های مولکولی به صورت تلفیق با روش‌های بیومتری را در اصلاح آنها اجتناب‌ناپذیر می‌نماید. از جمله روش‌های مولکولی تجزیه صفات کمی با استفاده از نشانگرهای DNA، تجزیه ارتباط می‌باشد که با تکیه بر عدم تعادل پیوستگی به مطالعه روابط بین تنوع فنوتیپی و چندشکلی ژنتیکی می‌پردازد [Breseghello and Sorrells, 2006].

از طرف دیگر تازگی و شادابی گل‌ها تعیین کننده ارزش اقتصادی آنهاست و یکی از فاکتورهای مهم در معرفی ارقام جدید توجه به ماندگاری گل بعد از برداشت و شناخت فرآیندهای بیوشمیایی است که در طی پیری رخ می‌دهد. استراتژی اصلی که پس از برداشت گل دنبال می‌شود، کاهش فعالیت‌های متابولیکی و حفظ خصوصیات فیزیکوشیمیایی محصول است. پیری گل فرآیندی سریع و پیچیده است که سبب تغییرات گسترده در سطح سلول و بافت‌ها می‌شود که به عنوان مرحله نهایی زندگی گل مطرح است [Hoeberichts et al., 2007; Macnish et al., 2010].

گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) گیاهی روز کوتاه و متعلق به خانواده کلاپرک‌سانان است. این گیاه به سبب کاربردهای متعددی که در صنایع گلکاری و دارویی دارد یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی در عرصه جهانی به شمار می‌رود. علاوه بر این‌که به عنوان گل بریدنی استفاده می‌شود، در میان گل‌های گلدانی و باغچه‌ای نیز جایگاه ویژه‌ای دارد [خلیقی، ۱۳۷۴؛ قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۸۷]. علی‌رغم تحقیقات گسترده‌ای که در زمینه اصلاح گیاهان زینتی با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی انجام شده است اما در مورد گل داوودی تنها چند گزارش در زمینه تنوع ژنتیکی با نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی ارایه شده است [Wolff and Van Rijn, 1993; Zhang et al., 2010; Shao et al., 2010; Zhang et al., 2011]. بنابراین نیاز به شناسایی بیش‌تر ژرم‌پلاسم گل داوودی و شناخت رفتارهای بیوشیمیایی در زمان پیری و پس از برداشت گل در ارقام مختلف ضروری به نظر می‌رسد. چرا که درک میزان تغییرات فیزیولوژیک گل زمانی که از گیاه مادری جدا می‌شود نقش بسزایی در افزایش ماندگاری و بهبود ویژگی‌های پس از برداشت آن دارد. بنابر آنچه گفته شد اهدافی که در این پایان‌نامه پی‌گیری می‌شود عبارتند از:

۱- ارزیابی میزان تنوع ژنتیکی و مقایسه ژنوتیپ‌های موجود در کلکسیون گل داوودی در ایران.

۲- بررسی و شناخت خصوصیات رویشی ژنوتیپ‌های داوودی در ایران.

۳- درک روابط بین صفات و ارزیابی آنها از دیدگاه باغبانی و ژنتیکی جهت استفاده در برنامه‌های به‌نژادی.

۴- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از لحاظ برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک، مولکولی و شاخص‌های فیزیولوژیک پس از برداشت با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره.

۵- مطالعه تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در طی پیری ژنوتیپ‌های مختلف گل داوودی.

۶- تعیین نشانگرهای مولکولی مثبت و معنی‌دار مرتبط با ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک مورد مطالعه با استفاده از تجزیه ارتباط.

۷- شناسایی ژنوتیپ‌های برتر و ضعیف‌تر با توجه به بررسی‌های مورفولوژیک، شاخص‌های پس از برداشت و مولکولی جهت استفاده در برنامه‌های به‌نژادی.

فصل اول

کلیات و مرور منابع

۱-۱- تاریخچه گل داوودی

لغت Chrysanthemum از ترکیب دو کلمه یونانی‘chrysos’ به معنای طلا و ’anthemon‘ به معنای گل گرفته شده است. اولین گزارش‌ها در مورد گل داوودی به حدود ۳۰۰ سال قبل از میلاد مسیح برمی‌گردد که در یک کتاب شعر چینی به این گل اشاره کرده است [Anderson, 2007]. وجود شهری به نام این گل در چین و هدیه بذرهای گل داوودی با رنگ‌های مختلف سال‌ها بعد از میلاد مسیح از طرف کشور کره به ژاپن نشان از محبوبیت دیرینه این گل در مشرق زمین دارد. یکی از نمادهای فرهنگی در کشور ژاپن که هر ساله یک روز را به خود اختصاص می‌دهد گل داوودی است. علاوه بر ارزش زینتی گل داوودی در گذشته، استفاده از این گیاه به عنوان منبع غذایی و دارویی اهمیت بالایی داشت، به طوری‌که از گلبرگ‌ها در تهیه سالاد و چای استفاده می‌شد و هم‌چنین ساقه و برگ آن به عنوان سبزی مصرف می‌گردید. در سال ۱۶۸۸ گل داوودی از طریق کشور هلند به دنیای غرب معرفی شد و بعدها در سطح بریتانیا و ایالات متحده گسترده و به عنوان یک گل بین‌المللی شناخته شد [Anderson, 2007]. مراکز تنوع داوودی نیمکره شمالی است که از اروپا، مناطق مدیترانه تا شرق آسیا یعنی چین و ژاپن را در بر می‌گیرد [Dowrick, 1952].

۱-۲- مشخصات گیاه‌شناسی

جنس *Chrysanthemum* دارای گونه‌های متعددی است که به خانواده کلاپرک‌سان[1] تعلق دارد [خلیقی، ۱۳۷۴؛ Cockshull, 1985]. داوودی به صورت یک‌ساله، چندساله و حتی درختچه‌های کوچک و بوته‌ای دیده می‌شود [قهساره و کافی، ۱۳۸۷]. برگ‌ها صاف یا دندانه‌دار که به صورت متناوب روی ساقه قرار می‌گیرند. این گل دارای گل‌آذین منفرد خوشه‌ای با دو نوع گلچه زبانه‌ای و لوله‌ای است که روی یک طبق قرار دارند. گلچه‌های زبانه‌ای که در سمت بیرونی طبق واقع شده‌اند از لحاظ شکل و رنگ تنوع بالایی دارند. این گلچه‌ها از لحاظ تولید مثلی به عنوان گلچه‌های ناقص و غیر بارور شناخته می‌شوند که فقط دارای اندام گل‌های ماده هستند. گلچه‌هایی که در وسط طبق قرار دارند، گلچه لوله‌ای نامیده می‌شوند که دو جنسی و معمولاً بارور هستند [Sheela, 2008; Chen et al., 2009].

۱-۲-۱- گونه‌ها

بر طبق گزارش‌ها، تعداد گونه‌ها در جنس *Chrysanthemum* از ۱۰۰ تا ۲۰۰ گونه متفاوت است. در بین گونه‌های مهم داوودی می‌توان به گونه‌هایی چون *C. boreale*، *C. carinatum*، *C. coronarium*، *C. cinerarifolium*،

[1] . Asteraceae

C. sinense ،*C. oratum* ،*C. morifolium* ،*C. maximum* ،*C. japonicum*،*C. indicum* ،*C. frutescens* اشاره کرد [Sheela, 2008].

۱-۲-۲- طبقه‌بندی

ارقام داوودی معمولاً بر اساس اندازه گل به دو گروه گل بزرگ و گل کوچک تقسیم می‌شوند [Li and Shao, 1990; Sheela, 2008; Kang et al., 2013]. گروه گل بزرگ یا استاندارد دارای یک تا سه ساقه هستند که هر کدام به یک گل منتهی می‌شوند و به صورت استاندارد رشد می‌کنند. کاربرد این نوع داوودی بیش‌تر به عنوان شاخه گل بریدنی است و از صفات مهم این گروه، ساقه بدون انشعاب با دوره طولانی گلدهی است. در گروه گل‌های کوچک یا اسپری، ساقه چندین انشعاب دارند که دارای تعداد زیادی گل هستند و به صورت بوته‌ای رشد می‌نمایند [Sheela, 2008; Kang et al., 2013]. گروه اسپری برای انواع مصارف زینتی کاربرد دارند. رنگ گل، اندازه و شکل آن از جمله صفات مهم برای ارزیابی ارزش زینتی آنهاست. این گروه خود به انواع گل کم‌پر[1] پرپر[2]، لانه زنبوری[3] و آنمونی[4] تقسیم می‌شود [Chen et al., 2009; Kang et al., 2013]. در گل‌های نوع آنمونی مرکز گل برجسته، شامل گلچه‌های لوله‌ای بلند و کشیده است که این گلچه‌ها می‌توانند از لحاظ رنگ با گلچه‌های زبانه‌ای متفاوت باشند. به‌طوری‌که وجود گلچه‌های لوله‌ای بزرگ و رنگی وجه تمایز گل آنمونی از گل غیر آنمونی است. در گل غیر آنمونی‌ها، گلچه‌های لوله‌ای که روی صفحه مرکزی قرار دارند دوجنسی و بارور هستند که به عنوان شکل ابتدایی این گل در نظر گرفته می‌شوند [Chen et al., 2009]. در بیش‌تر ارقام رنگی شدن گلچه‌ها به گلچه‌های زبانه‌ای محدود می‌شود، اما در گل‌های آنمونی هر دو نوع گلچه رنگ می‌گیرند [Anderson, 2007]. این ویژگی‌ها باعث شده است که داوودی‌های نوع آنمونی دارای ارزش زینتی بالایی باشند. رنگیزه-های گل در گلبرگ گل داوودی در لایه‌های اپیدرمی بالا و پایین گلبرگ قرار دارند [Langton, 1980].

۱-۳- اهمیت اقتصادی

گل داوودی یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی با اهمیت اقتصادی بالاست، به طوری‌که دومین رتبه را بعد از گل رز از لحاظ تولید و مصرف به خود اختصاص داده است [Teixeira da Silva, 2003; Anderson, 2007]. این گیاه به سبب کاربردهای متعددی که در صنایع گلکاری و دارویی دارد، یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی در عرصه جهانی به شمار می‌رود. علاوه بر این‌که به عنوان گل بریدنی استفاده می‌شود، در میان گل‌های گلدانی و باغچه‌ای نیز جایگاه ویژه‌ای

[1]. Single type
[2]. Double type
[3]. Honeycomb type
[4]. Anemone type