كليه حقوق مادي مترتب بر نتايج مطالعات، ابتكارات و

نوآوري هاي ناشي از تحقيق موضوع اين پايان نامه

متعلق به دانشگاه رازي است.

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسي ارشد مهندسی کشاورزی رشته اصلاح نباتات

عنوان پایان نامه

تهیه نقشه ژنتیکی پیوستگی لوبیا با استفاده از نشانگرهای DNA

استاد راهنما:

دکتر کیانوش چقامیرزا

استاد مشاور:

مهندس حمیدرضا دری

نگارش:

اکرم صادقی

تیرماه ۱۳۹۰

چکیده

لوبیا گیاهی است یکساله از خانواده بقولات که از نظر سطح زیر کشت و ارزش اقتصادی مقام اول را در بین حبوبات در دنیا به خود اختصاص داده است. به منظور تهیه نقشه ژنتیکی، ابتدا ارزیابی تنوع ژنتیکی و بررسی رابطه صفات مختلف زراعی از ۷۲ لاین اینبرد و ۲۰ ژنوتیپ لوبیا که از ایستگاه ملی تحقیقات لوبیا خمین دریافت شده بود، انجام شد. نتایج تجزیه همبستگی صفات نشان داد که صفت تعداد دانه در بوته دارای بیشترین ضریب همبستگی با عملکرد بود. بنابراین انتخاب ارقام با تعداد دانه در بوته بالا می‌تواند در کارهای اصلاحی مدنظر قرار گیرد. با توجه به تجزیه ضرایب مسیر، تعداد دانه در بوته دارای بیشترین تاثیر در سطح اولیه عملکرد بود. همچنین تجزیه به عامل‌ها تعداد ۵ عامل را مشخص کرد که جمعا ۷۵% از تنوع کل داده‌ها را توجیه می کرد. بر اساس تجزیه خوشه‌ای، متغیرها در ۴ گروه قرار گرفتند. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در سطح مولکولی از ۲۰ ژنوتیپ لوبیا با سه نشانگر RAPD، ISSR و CAPS استفاده شد. از ۵۲ آغازگر RAPD استفاده شده تعداد ۴۰۱ باند چندشکلی با متوسط ۸۷/۹۱% آشکار شد. بیشترین تعداد باند مربوط به آغازگر OPE02 (۲۰ باند) بود. با ۳۳ آغازگر ISSR، ۱۶۸ باند چندشکل مشاهده گردید که بالاترین مقادیر RP و MI مربوط به آغازگرهای UMC872 و B بود. با ۱۷ جفت آغازگر STS تعداد ۵۷ باند واضح تولید شد و حداکثر تعداد باند مربوط به آغازگر Bng205 (۶ باند) بود. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های مولکولی، ژنوتیپ‌ها را در ۴ گروه قرار داد. بر اساس آزمون منتل بین ماتریس‌های تشابه نشانگرهای RAPD و ISSR با نشانگرهای مورفولوژیکی همبستگی مشاهده نشد در حالیکه نشانگر STS با نشانگر مورفولوژیکی دارای همبستگی بود. همچنین بین ماتریس‌های RAPD و ISSR، RAPD و STS و CAPS و ISSR همبستگی مشاهده شد. برای ترسیم نقشه پیوستگی و مکان‌یابی صفات کمی از ۱۰۰ لاین اینبرد نوترکیب F_6 حاصل از تلاقی والدین Goli×AND1007 دریافت شده از ایستگاه ملی تحقیقات لوبیا خمین استفاده شد. با ارزیابی نشانگرها بر روی این جمعیت، تعداد ۷۰۰ لوکوس تکثیر گردید. از این تعداد، ۲۳۰ لوکوس با نسبت مورد انتظار مندلی برای نشانگرهای غالب و همبارز مطابقت داشتند. از تعداد ۲۳۰ لوکوس بدست آمده حاصل از ارزیابی افراد جمعیت، تعداد ۱۰۷ لوکوس (۱۰ عدد STS، ۳۵ عدد ISSR و ٦٢ عدد RAPD) در ۹ گروه پیوستگی قرار گرفتند. نقشه بدست آمده طولی معادل ۹۷۱/۱ سانتی مورگان با متوسط فاصله ۹/۰۷ سانتی مورگان داشت. نقشه ایجاد شده شامل ۹ گروه پیوستگی بود که هشت گروه آن متعلق به گروه‌های پیوستگی شناخته شده لوبیا بودند و یک گروه به صورت ناشناخته معرفی شد. کوچکترین گروه پیوستگی طولی معادل ۳۸/۵ سانتی مورگان و بلندترین گروه ۲۱۱/۳ سانتی مورگان طول داشت. تعداد لوکوس‌ها از ۵ تا ۱۹ لوکوس در هر گروه پیوستگی متغیر بود. برای ۶ صفت مورفولوژیک اندازه گیری شده از جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب در مجموع ۵۹ جایگاه کنترل کننده صفات کمی QTL، حداقل ۵ تا حداکثر QTL۱۶ به ترتیب برای صفات فرم بوته و روز تا رسیدگی شناسایی شد. بیشترین تعداد QTL در گروه پیوستگی LG1 شناسایی شد که می‌توان این گروه پیوستگی را که شامل پنج نشانگر اختصاصی هم بود به عنوان مهمترین گروه پیوستگی لوبیا دانست. علاوه بر QTLهای انفرادی، برخی QTLها دارای اثرات پلیوتروپی بوده یا مکان ژنومی گروه‌های ژنی کنترل کننده این QTLها بسیار نزدیک بهم بودند. اثرات آللی مثبت و منفی مربوط به QTLها، توجیه کننده همبستگی مثبت و منفی موجود بین صفات بود. همچنین هم مکانی چند QTL موجب همبستگی بالای صفات شده است.

واژه‌های کلیدی: لوبیا، لاین‌های اینبرد نوترکیب، تنوع ژنتیکی، نقشه ژنتیکی و مکان‌یابی صفات کمی

فهرست مطالب

عنوان ..... صفحه

فصل اول: کلیات و مرور منابع

۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- کلیات و مرور منابع ۳
۱-۲-۱- حبوبات و خصوصیات اکولوژیکی آنها ۳
۱-۲-۲- اهمیت غذایی لوبیا ۴
۱-۲-۳- رده‌بندی گیاهی لوبیا ۴
۱-۲-۴- ژنتیک لوبیا ۵
۱-۲-۵- اهلی شدن و تکامل لوبیا ۶
۱-۲-۶- تغییرات ژنتیکی ۶
۱-۲-۷- منابع ژنتیکی لوبیا در دنیا و ایران ۷
۱-۲-۸- مورفولوژی لوبیا ۷

۱-۲-۹- ذخایر توارثی و حفاظت آن ۸
۱-۲-۱۰- اصلاح لوبیا ۹
۱-۲-۱۰-۱- اهداف اصلاحی در ایران ۹
۱-۲-۱۱- صفات کمی ۱۰
۱-۲-۱۲- تنوع ژنتیکی ۱۱
۱-۲-۱۲-۱- بررسی تنوع ژنتیکی ۱۱
۱-۲-۱۲-۲- تنوع ژنتیکی کمی: بررسی تنوع ژنتیکی درون جمعیتی ۱۳
۱-۲-۱۲-۳- تنوع ژنتیکی کمی: بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیتی ۱۳
۱-۲-۱۲-۴- تجزیه واریانس مولکولی ۱۳
۱-۲-۱۲-۵- نسبت‌های ژنتیک کمی: فاصله ژنتیکی ۱۴
۱-۲-۱۲-۵-۱- مدل‌های فاصله ۱۴
۱-۲-۱۲-۶- بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره ۱۵
۱-۲-۱۲-۶-۱- تجزیه خوشه‌ای ۱۶
۱-۲-۱۲-۶-۱-۱- تشخیص تعداد مناسب گروه‌ها ۱۶
۱-۲-۱۲-۶-۲- تجزیه به محورهای اصلی ۱۷
۱-۲-۱۳- نشانگرها ۱۷
۱-۲-۱۳-۱- نشانگرهای مورفولوژی ۱۷
۱-۲-۱۳-۲- نشانگرهای مولکولی ۱۷
۱-۲-۱۳-۲-۱- نشانگرهای بیوشیمیایی ۱۸
۱-۲-۱۳-۲-۲- نشانگرهای DNA ۱۸
۱-۲-۱۳-۲-۲-۱- نشانگرهای مبتنی بر هیبریداسیون ۱۸
۱-۲-۱۳-۲-۲-۲- نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۱۹
۱-۲-۱۳-۲-۲-۲-۱- روش RAPD ۱۹
۱-۲-۱۳-۲-۲-۲-۲- روش ISSR ۲۱
۱-۲-۱۳-۲-۲-۲-۳- نشانگر STS ۲۱
۱-۲-۱۳-۳- خصوصیات عمده نشانگرهای اختصاصی ژن ۲۱
۱-۲-۱۳-۴- کاربرد نشانگرهای DNA ۲۳
۱-۲-۱۳-۵- کاربرد نشانگرهای مولکولی در نقشه‌یابی ۲۴
۱-۲-۱۴- نقشه پیوستگی ۲۸
۱-۲-۱۴-۱- جمعیت‌های نقشه‌یابی ۳۰
۱-۲-۱۴-۱-۱- جمعیت F2 ..... ۳۰
۱-۲-۱۴-۱-۲- جمعیت F2:3 ..... ۳۰
۱-۲-۱۴-۱-۳- جمعیت حاصل از تلاقی برگشتی ۳۱
۱-۲-۱۴-۱-٤- لاین‌های اینبرد نوترکیب ۳۱
۱-۲-۱۴-۱-٥- هاپلوئیدهای مضاعف ۳۱
۱-۲-۱۴-۲- شناسایی چندشکلی (پلی مورفیسم) ۳۲
۱-۲-۱۴-۳- تجزیه پیوستگی نشانگرها ۳۳
۱-۲-۱۵- توابع نقشه‌یابی ۳۳
۱-۲-۱۶- مقایسه بین نقشه‌ها ۳۵
۱-۲-۱۶-۱- مسائل موجود در نقشه کشی ژنتیکی مقایسه‌ای ۳۵

۱-۲-۱۷- جایگاه صفات کمی ۳۶
۱-۲-۱۷-۱- تجزیه QTL ۳۶
۱-۲-۱۸- روش‌های تشخیص QTLها ۳۸
۱-۲-۱۸-۱- تک نشانگری (تجزیه تک نقطه‌ای) ۳۸
۱-۲-۱۸-۲- نقشه‌یابی فاصله‌ای ۳۹
۱-۲-۱۸-۳- نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب ۴۰
۱-۲-۱۹- انواع اشتباه و آستانه معنی‌دار ۴۰
۱-۲-۲۰- گزارش و توصیف QTLهای تعیین شده از نقشه یابی فاصله‌ای ۴۱
۱-۲-۲۱- متداولترین نرم افزارهای تجزیه QTL ۴۲
۱-۲-۲۲- فواصل اطمینان برای QTLها ۴۲
۱-۲-۲۳- تعداد نشانگرها و فاصله گذاری آنها ۴۲
۱-۲-۲۴- اهمیت، ارزش و کاربرد نتایج پایان نامه ۴۲
۱-۲-۲۵- پیشرفت‌هاي ژنتيكي ۴۳
۱-۲-۲۶- مشکلات و محدودیت‌هاي اصلاحي ۴۳
۱-۲-۲۷- چشم اندازهاي آينده ۴۳
فصل دوم: مواد و روش‌ها
۲- مواد و روش‌ها ۴۵
۲-۱- بخش زراعی ۴۵
۲-۱-۱- آزمایش و مواد گیاهی استفاده شده برای بررسی رابطه صفات مختلف زراعی با عملکرد و ارزیابی تنوع ژنتیکی ۴۵
۲-۱-۲- آزمایش و مواد گیاهی استفاده شده برای تهیه نقشه ژنتیکی و مکان یابی صفات کمی ۴۵
۲-۲- بخش مولکولی ۴۷
۲-۲-۱- استخراج DNA ژنومی از مواد گیاهی ۴۷
۲-۲-۲- واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از آغازگرهای RAPD، ISSR و STS ۴۸
۲-۲-۲-۱- برنامه عادی واکنش زنجیره‌اي پلي‌مراز ۵۳
۲-۲-۲-۲- برنامه Touchdown PCR (TD- PCR) ۵۵
۲-۲-۲-۳- بهینه سازی واکنش زنجیره‌اي پلي‌مراز ۵۵
۲-۲-۲-٤- استفاده از کنترل منفی در واکنش‌های زنجیره‌اي پلي‌مراز ۵۶
۲-۲-۳- هضم محصولات PCR توسط آنزیم‌های برشی ۵۷
۲-۲-٤- الکتروفورز ۵۷
۲-۲-٤-۱- الکتروفورز افقی قطعات تکثیر شده در روشهای RAPD و ISSR با ژل آگارز ۵۷
۲-۲-٤-۲- الکتروفورز قطعات تکثیر شده در STS (CAPS و SCAR) ۵۸
۲-۳- تجزیه و تحلیل داده‌ها ۵۸
۲-۳-۱- ارزیابی فنوتیپی ۵۸
۲-۳-۲- ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای DNA ۵۸
۲-۳-۳- ایجاد نقشه ژنتیکی لوبیا ۵۸
۲-۳-۴- مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی (QTL) ۵۹

فصل سوم: نتایج و بحث

۳- نتایج و بحث ۶۱

۳-۱- مطالعه رابطه صفات مختلف زراعی ۶۱
۳-۱-۱- تجزیه ضرایب همبستگی ۶۱
۳-۱-۲- تجزیه ضرایب مسیر ۶۳
۳-۱-۳- تجزیه عامل‌ها ۶۶
۳-۱-۴- تجزیه خوشه‌ای صفات مورد بررسی در لوبیا ۶۸
۳-۲- ارزیابی تنوع ژنتیکی ۶۹
۳-۲-۱- ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های لوبیا بر اساس صفات مورفولوژیک ۷۰
۳-۲-۲- تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس صفات مورفولوژیك ۷۰
۳-۲-۲- ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های لوبیا بر اساس نشانگرهای مولکولی ۷۲
۳-۲-۲-۱- نتایج حاصل از نشانگر RAPD ۷۲
۳-۲-۲-۲- تجزیه خوشه‌ای ۲۰ ژنوتیپ لوبیا بر اساس نشانگر RAPD ۷۳
۳-۲-۳-۳- تجزیه به محورهاي اصلي در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا بر اساس نشانگر RAPD ۷۷
۳-۲-۳-۴- تجزیه ISSR ۷۸
۳-۲-۲-۵- تجزیه خوشه‌ای ۲۰ ژنوتیپ لوبیا بر اساس نشانگر ISSR ۸۱
۳-۲-۲-۶- تجزیه به محورهاي اصلي بر اساس نشانگر ISSR ۸۲
۳-۲-۲-۷- نتایج حاصل از نشانگرهای اختصاصی STS در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا ۸۳
۳-۲-۲-۸- تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرSTS ۸۳
۳-۲-۳-۹- تجزیه به محورهاي اصلي بر اساس نشانگر STS ۸۵
۳-۲-۳-۱۰- نتایج حاصل از ترکیب سه نشانگر STS، RAPD و ISSR ۸۷
۳-۲-۳-۱۱- ماتریس تشابه جاکارد بر اساس ترکیب نشانگرهای STS، RAPD و ISSR ۸۷
۳-۲-۳-۱۲- تجزیه خوشه‌ای بر اساس ترکیب سه نشانگرSTS، RAPD و ISSR ۸۷
۳-۲-۲-۱۳- تجزیه به محورهاي اصلي بر اساس ترکیب سه نشانگر RAPD، STS و ISSR ... ۹۰
۳-۲-۲-۱۴- آزمون منتل ۹۱
۳-۲-۲-۱۴-۱- مقایسه ماتریس‌های ضریب تشابه جاکارد حاصل از نشانگر RAPD با نشانگرهای مورفولوژیک ۹۱
۳-۲-۲-۱۴-۲- مقایسه ماتریس‌های ضریب تشابه جاکارد حاصل از نشانگر ISSR با نشانگرهای مورفولوژیک ۹۲
۳-۲-۲-۱۴-۳- مقایسه ماتریس‌های ضریب تشابه جاکارد حاصل از نشانگر STS با نشانگرهای مورفولوژیک ۹۳
۳-۲-۲-۱۴-۴- مقایسه ماتریس‌هاي ضریب تشابه جاکارد حاصل از نشانگرهاي RAPD و ISSR ۹۴
۳-۲-۲-۱۴-۵- مقایسه ماتریس‌هاي ضریب تشابه جاکارد حاصل از نشانگرهاي RAPD و STS ۹۴
۳-۲-۲-۱۴-۶- مقایسه ماتریس‌هاي ضریب تشابه جاکارد حاصل از نشانگرهاي STS و ISSR ۹۵
۳-۲-۲-۱۴-۷- مقایسه ماتریس‌های ضریب تشابه جاکارد حاصل از ترکیب نشانگرهای مولکولی با نشانگرهای مورفولوژیک ۹۶
۳-۳- تهیه نقشه ژنتیکی لوبیا ۹۸
۳-۳-۱- نتایج حاصل از نشانگرهای DNA ۹۸
۳-۳-۱-۱- نشانگر STS ۹۸

۳-۳-۱-۲- نشانگر RAPD ۱۰۰
۳-۳-۱-۳- نشانگر ISSR ۱۰۳
۳-۳-۲- تعیین گروه‌های پیوستگی ۱۰۳
۳-۳-۲-۱- ترسیم نقشه پیوستگی ۱۰۴
۳-۳-۲-۱-۱- گروه پیوستگی LG1 ..... ۱۰۵
۳-۳-۲-۱-۲- گروه پیوستگی LG2 ..... ۱۰۶
۳-۳-۲-۱-۳- گروه پیوستگی LG4 ..... ۱۰۷
۳-۳-۲-۱-۴- گروه پیوستگی LG5 ..... ۱۰۸
۳-۳-۲-۱-۵- گروه پیوستگی LG7 ..... ۱۰۸
۳-۳-۲-۱-۶- گروه پیوستگی LG8a ۱۰۹
۳-۳-۲-۱-۷- گروه پیوستگی LG8b ۱۱۰
۳-۳-۲-۱-۸- گروه پیوستگی LG10 ..... ۱۱۱
۳-۳-۲-۱-۹- گروه پیوستگی ناشناخته LG_Unrec.1 ..... ۱۱۲
۳-۴- مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی ۱۱۲
۳-۴-۱- صفات اندازه گیری شده و مشخصات آنها ۱۱۲
۳-۴-۲- همبستگی ساده صفات ۱۱۳
۳-۴-۳- شناسایی QTL برای صفات مختلف ۱۱۴
۳-۴-۳-۱- عملکرد دانه ۱۱۸
۳-۴-۳-۲- تعداد دانه در بوته ۱۱۹
۳-۴-۳-۳- وزن صد دانه ۱۲۱
۳-۴-۳-۴- روز تا گلدهی ۱۲۳
۳-۴-۳-۵- روز تا رسیدگی ۱۲۵
۳-۴-۳-۶- فرم بوته ۱۲۷
۳-۵- نتیجه گیری کلی ۱۳۱
۳-۶- پیشنهادات ۱۳۲
منابع ۱۳۴

فهرست اشکال

شکل ۱-۱. فاصله ژنتیکی بین نمونه‌ها با توجه به شباهت افراد ۱۴
شکل ۱-۲. انواع نشانگرها ۲۰
شکل۱-۳. فراوانی نوترکیبی ۲۹
شکل ۱-۴. جمعیت‌های نقشه‌یابی ۳۰
شکل۱-۵. ظهور باندها در جمعیت‌ها و انواع نشانگرهای بارز و همبارز ۳۲
شکل ۱-۶. تجزیه پیوستگی نشانگرها ۳۳
شکل ۱- ۷. مقایسه تابع نقشه هالدین و کوزامبی ۳۵
شکل ۱- ۸. تجزیه QTL برای نشانگرهای پیوسته و ناپیوسته ۳۷
شکل ۱- ۹. نوترکیب‌های حاصل از کراسینگ‌اور نشانگرهای پیوسته و ناپیوسته با QTL ۳۸
شکل۳- ۱. دیاگرام تجزیه علیت ۶۳
شکل ۳-۲. گروه‌بندي صفات مختلف مورد بررسی در لوبیا با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم Ward ۶۹
شکل ۳-۳. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ ژنوتیپ لوبیا بر اساس صفات زراعی به روش Centroid ۷۰
شکل ۳-۴. نمودار پراکنش ژنوتیپ‌ها با استفاده از صفات مورفولوژيك بر اساس ماتریس واریانس کوواریانس ۷۱
شکل ۳-۵. نمودار سه بعدی حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی با استفاده از صفات مورفولوژيك .. ۷۱
شکل ۳-۶. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ ژنوتیپ لوبیا با استفاده از نشانگر RAPD و بر اساس ضریب تشابه جاکارد ۷۵
شکل ۳-۷. نمودار ۳ بعدی حاصل از تجزیه به محورهاي اصلی در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا بر اساس نشانگر RAPD ۷۷
شکل ۳-۸. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ ژنوتیپ لوبیا با استفاده از نشانگر ISSR بر اساس ضریب تشابه جاکارد ۸۱
شکل ۳-۹. نمودار سه بعدی حاصل از تجزیه به محورهای اصلی در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا بر اساس نشانگر ISSR ۸۲
شکل ۳-۱۰. الگوي باندي نشانگر STS (BFRUCT) در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا ۸۳
شکل ۳-۱۱. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ ژنوتیپ لوبیا با استفاده از نشانگر STS بر اساس ضریب تشابه جاکارد ۸۴
شکل ۳-۱۲. نمودار ۳ بعدی حاصل از تجزیه به محورهای اصلی در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا بر اساس نشانگر STS ۸۵
شکل ۳-۱۳. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ ژنوتیپ لوبیا با استفاده از ترکیب سه نشانگر RAPD، ISSR و STS بر اساس ضریب تشابه جاکارد ۸۸
شکل ۳-۱۴. نمودار ۳ بعدی حاصل از تجزیه به محورهای اصلی بر اساس ترکیب نشانگرها ۹۰
شکل ۳-۱۵. هیستوگرام آزمون منتل نشانگر RAPD و داده‌هاي مورفولوژيك ۹۲
شکل ۳-۱۶. هیستوگرام آزمون منتل نشانگر ISSR و داده‌هاي مورفولوژيك ۹۲
شکل۳-۱۷. هیستوگرام آزمون منتل نشانگر STS و داده‌هاي مورفولوژيك ۹۳
شکل ۳-۱۸. هیستوگرام آزمون منتل نشانگرهاي RAPD و ISSR ۹۴
شکل ۳-۱۹. هیستوگرام آزمون منتل نشانگرهاي RAPD و STS ۹۵

شکل ۳-۲۰. هیستوگرام آزمون منتل نشانگرهاي STS و ISSR ۹۶
شکل ۳-۲۱. هیستوگرام آزمون منتل نشانگر های مولکولی و داده‌هاي مورفولوژيك ۹۶
شکل ۳-۲۲. الگوی تفرق قطعات برش یافته آغازگر اختصاصی ENOL توسط آنزیم برشی *Taq* I ۹۹
شکل ۳-۲۳. چندشکلی‌های طول قطعات هضم برای نشانگر STS ۱۰۰
شکل ۳-۲۴. الگوی تفرق قطعات تکثیر شده RAPD توسط آغازگر E19 ..... ۱۰۱
شکل ۳-۲۵. الگوی تفرق قطعات تکثیر شده RAPD توسط آغازگر OPC07 ..... ۱۰۱
شکل ۳-۲۶. الگوی تفرق قطعات تکثیر شده ISSR توسط آغازگر UBC855 ..... ۱۰۳
شکل ۳-۲۷. الگوی تفرق قطعات تکثیر شده ISSR توسط آغازگر C ۱۰۳
شکل ۳-۲۸. گروه پیوستگی LG1 ..... ۱۰۶
شکل ۳-۲۹. گروه پیوستگی LG2 ..... ۱۰۷
شکل ۳-۳۰. گروه پیوستگی LG4 ..... ۱۰۷
شکل۳-۳۱. گروه پیوستگی LG5 ..... ۱۰۸
شکل ۳-۳۲. گروه پیوستگی LG7 ..... ۱۰۹
شکل ۳-۳۳. گروه پیوستگی LG8a ۱۱۰
شکل ۳-۳۴. گروه پیوستگی LG8b ۱۱۱
شکل ۳-۳۵. گروه پیوستگی LG10 ..... ۱۱۲
شکل ۳-۳۶. گروه پیوستگی LG_Unrec.1 ..... ۱۱۲
شکل ۳ -۳۷. نقشه پیوستگی ژنتیکی حاصل از تلاقی (*Goli*×*AND1007*) به همراه QTLهای شناسایی شده برای صفات مورد مطالعه در لوبیا ۱۱۷
شکل ۳-۳۸. QTLهای شناسایی شده برای عملکرد دانه لوبیا ۱۱۸
شکل ۳-۳۹. QTLهای شناسایی شده برای تعداد دانه در بوته ۱۲۰
شکل ۳-۴۰. QTLهای شناسایی شده برای صفت وزن صد دانه ۱۲۲
شکل ۳-۴۱. QTLهای شناسایی شده برای صفت روز تا گلدهی ۱۲۴
شکل ۳-۴۲. QTLهای شناسایی شده برای صفت روز تا رسیدگی ۱۲۵
شکل ۳-۴۳. QTLهای شناسایی شده برای صفت فرم بوته ۱۲۸
شکل ۳-۴۴. QTLهای صفات مختلف روی گروه‌های پیوستگی لوبیا در جمعیت حاصل از تلاقی (*Goli*×*AND1007*) ۱۳۰

فهرست جداول

جدول ۱-۱. نسبت‌هاي مورد انتظار در جمعیت‌های مختلف نقشه‌یابی ۳۲
جدول ۱-۲. سیستم‌های نامگذاری گروه‌های پیوستگی در لوبیا ۳۶
جدول ۲-۱. ژنوتیپ‌ها، تلاقی‌ها و تعداد لاین‌های اینبرد با منشا جمع آوری آنها ۴۶
جدول ۲-۲. صفات زراعی اندازه گیری شده در این تحقیق ۴۷
جدول ۲- ۳. مشخصات آغازگرهای RAPD با دمای اتصال آنها ۴۹
جدول ۲- ۴. مشخصات آغازگرهای ISSR با دمای اتصال آنها ۵۰
جدول ۲- ۵. اطلاعات مربوط به توالی و منبع آغازگرهای اختصاصی STS ۵۱
جدول ۲-۶. ترکیب، میزان و غلظت مواد مورد نیاز در روش‌های RAPD و ISSR ۵۳
جدول ۲- ۷. ترکیب، میزان و غلظت مواد مورد نیاز در روش STS ۵۳
جدول ۲-۸. شرایط دمایی و زمانی واکنش براي آغازگرهای RAPD ۵۴
جدول ۲- ۹. شرایط دمایی و زمانی واکنش برای نشانگر ISSR ۵۴
جدول ۲- ۱۰. شرایط دمایی و زمانی واکنش برای نشانگر STS ۵۴
جدول ۲- ۱۱. شرایط دمایی و زمانی براي برنامه Touchdown ۵۵
جدول ۲-۱۲. مشخصات آنزیم‌های برشی استفاده شده ۵۷
جدول ۳-۱. ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در لوبیا ۶۲
جدول ۳-۲. نتایج تجزیه مسیر در سطح اولیه عملکرد ۶۴
جدول۳-۳. نتایج تجزیه مسیر در سطح ثانویه عملکرد از طریق وزن صد دانه ۶۴
جدول ۳-۴. نتایج تجزیه مسیر در سطح ثانویه عملکرد از طریق تعداد دانه در تک بوته ۶۵
جدول ۳-۵. نتایج تجزیه مسیر در سطح ثانویه عملکرد از طریق روز تا رسیدگي ۶۵
جدول ۳-۶. نتایج تجزیه مسیر در سطح ثالثیه عملکرد از طریق تعداد دانه در نیام ۶۵
جدول ۳-۷. نتایج تجزیه مسیر در سطح ثالثیه عملکرد از طریق ارتفاع ۶۶
جدول ۳-۸. ماتریس عامل‌هاي چرخش یافته (چرخش واریماکس) براي صفات اندازه گیری شده ۶۸
جدول ۳-۹. نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌هاي اصلي بر اساس صفات زراعی مورد بررسي ۷۲
جدول ۳-۱۰. چندشکلی (%)، محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC)، شاخص نشانگر (MI)، نسبت چند شکلی موثر (EMR)، قدرت تفکیک (Rp) با هر یک از ۳۳ آغازگر RAPD ۷۴
جدول ۳-۱۱. ماتریس ضرایب تشابه جاکارد بر اساس نشانگر RAPD در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا ۷۶
جدول ۳-۱۲. نتایج حاصل از تجزیه به محورهاي اصلي بر اساس نشانگر RAPD ۷۷
جدول ۳-۱۳. چندشکلی (%)، محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC)، شاخص نشانگر (MI)، نسبت چندشکلی موثر (EMR)، قدرت تفکیک (Rp) ۱۹ آغازگر ISSR ۷۹
جدول ۳-۱۴. ماتریس ضرایب تشابه جاکارد بر اساس نشانگر ISSR در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا ۸۰
جدول ۳-۱۵. نتایج حاصل از تجزیه به محورهاي اصلي بر اساس نشانگر ISSR ۸۲
جدول ۳-۱۶. لیست و خصوصیات آغازگرهای STS مورد استفاده ۸۴
جدول ۳-۱۷. ماتریس ضرایب تشابه جاکارد بر اساس نشانگر STS در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا ۸۶
جدول ۳-۱۸. نتایج حاصل از تجزیه به محورهاي اصلي بر اساس نشانگر STS ۸۷
جدول ۳-۱۹. ماتریس ضرایب تشابه دایس بر اساس ترکیب نشانگرهاي RAPD ، ISSR و STS در ۲۰ ژنوتیپ لوبیا ۸۹
جدول ۳-۲۰. نتایج حاصل از تجزیه به محورهاي اصلي بر اساس ترکیب سه نشانگر STS، RAPD و ISSR ۹۱

جدول ۳-۲۱. نتایج حاصل از بررسی محصولات تکثیر آغازگرهای اختصاصی در والدین تلاقی *Goli×AND1007*..... ۱۰۲
جدول ۳-۲۲. اطلاعات گروه‌های پیوستگی حاصل از تجزیه پیوستگی در لاین‌های اینبرد نوترکیب (F_6) حاصل از تلاقی *Goli×AND1007* ۱۰۵
جدول ۳-۲۳. آمار توصیفی صفات اندازه گیری شده در ۱۰۰ لاین اینبرد نوترکیب لوبیا ۱۱۳
جدول ۳-۲۴. ضرایب همبستگی ساده صفات اندازه گیری شده در ۱۰۰ لاین اینبرد نوترکیب F_6 حاصل از تلاقی *Goli×AND1007*..... ۱۱۴
جدول ۳-۲۵. مشخصات QTLهای مربوط به صفات زراعی در ۱۰۰ لاین اینبرد نوترکیب لوبیا... ۱۱۴

فصل اول

کلیات و مرور منابع

۱-۱- مقدمه

لوبيا گياهي است يكساله، از خانواده بقولات و زير خانواده پروانه آساها (*Papilionaceae*) و از جنس *Phaseolus* كه داراي ۲n=۲۲ كروموزوم است. حبوبات پس از غلات مهمترين منبع غذايي بشر هستند و لوبيا در دنيا از لحاظ سطح زير كشت و ارزش اقتصادي مقام اول را در بين حبوبات دارد (۱۹). لوبيا يكي از منابع مهم پروتئين (۲۵-۲۰%) و توليد انرژي (۶۰-۵۵%) براي انسان مي‌باشد و قسمت عمده‌اي از جيره غذايي روزانه مردم جهان به خصوص آسيا و آمريكاي جنوبي را تشكيل مي‌دهد (۱۸). در سال ۸۸-۱۳۸۷ سطح زير كشت لوبيا در ايران ۹۳۸۸۸ هكتار و توليد آن ۱۸۱۳۷۵ تن بوده است (۱). با توجه به اهميت لوبيا و محدود بودن کارهای اصلاحی در مورد لوبيا، به نظر می‌رسد اجرای برنامه‌های اصلاحي در رابطه با لوبيا ضروری باشد. از عوامل مهم موفقيت به‌نژادگران در برنامه‌هاي اصلاحي وجود تنوع ژنتيكي در گياهان زراعي و خويشاوندان وحشي آنها است. به‌نژادگران از اين تنوع در توليد ارقام جديد، انتقال ژن‌هاي مطلوب و توليد پايه‌هاي ژنتيكي قوي بهره برده‌اند. تغيير پذيري موجود بين ژنوتيپ‌هاي متفاوت يك گونه را تنوع ژنتيكي گويند (۱۱). از طرفی نقشه‌هاي ژنتيكي با پوشش حداكثری ژنوم، نقش به‌سزائي در تحقيقات پايه و كاربردي ژنتيك ايفا مي‌كنند و روش توانمندي براي مطالعه بيولوژي گياهي مي‌باشند. نقشه پيوستگي موقعيت نسبي نشانگرهاي ژنتيكي خاص را در طول كروموزوم نشان مي‌دهد در نتيجه اطلاع از چگونگی پيوستگی و توزيع ژن‌ها در ژنوم نقش مهمی را در طرح و تهيه برنامه‌های موثر اصلاح گياهان بازی می‌كند. در صورت وجود نقشه‌های ژنتيكی انتخاب والدين و اداره هيبريداسيون

ساده‌تر و تا حدود زیادی مثمرثمرتر خواهد بود زیرا دانستن موقعیت ژن‌ها بطور قابل ملاحظه‌ای حجم تلاقی‌ها و مدت زمان لازم برای بدست آوردن نتایج مورد نظر را کاهش می‌دهد. بنابراین تهیه نقشه ژنتیکی لوبیا می‌تواند کمک شایانی به به‌نژادگران گیاهی نماید (٦٢). از کاربرد نقشه‌هاي ژنتيكي مي‌توان به مكان‌يابي ژن‌هاي مورد نظر، تسهيل در اصلاح گياهان به كمك نشانگرها و تهيه نقشه‌ها بر اساس كلون اشاره كرد (١٧٧). اصول ايجاد نقشه‌هاي ژنتيكي پيوستگي بر اساس وقوع نوتركيبي است كه در تقسيم ميوز به وقوع مي‌پيوندد. انواع مختلفي از جمعيت‌هاي در حال تفرق براي تهيه نقشه ژنتيكي استفاده مي‌شوند. تفاوت اين جمعيت‌ها در ميزان نوتركيبي، تعداد چرخه‌هاي ميوزي و تثبيت نوتركيبي مي‌باشد (١٩٧). استفاده از روش‌های ژنتیکی کلاسیک، تهیه نقشه‌های ژنتیکی را فقط برای تعداد محدودی از موجودات امکان پذیر نموده است. در دهه‌هاي اخير با پيدايش نشانگرهاي DNA تحول عظيمي در تهيه نقشه‌هاي ژنتيكي در گياهان مختلف بوجود آمده است (٦٨). از جمله نشانگرهاي DNA كه

توارث غالب و مغلوبي دارند و ماهيت كلي آنها عدم نياز به داشتن اطلاعات اوليه از توالي ژنوم مورد بررسي است نشانگرهای RAPD[1] و ISSR[2] مي‌باشند. اين نشانگرها كاربرد بسيار گسترده‌اي در زيست شناسي مولكولي گياهي براي ساخت نقشه‌هاي پيوستگي مولكولي و مكان‌يابي ژن‌هاي خاص در جمعيت‌هاي در حال تفرق دارند (١٦١، ٦٤). يكي از اهداف مهم در تهيه نقشه پيوستگي ايجاد نقشه‌هاي ژنتيكي اسكلتي يا چهارچوبي است كه اغلب بر اساس استفاده از نشانگرهاي اختياری و سريع استوار است (١١٦). اين روش‌ها به علت زياد بودن تعداد نوارها (چندشكلی بالا)، سادگي و سرعت عمل كاربرد گسترده‌اي پيدا كرده‌اند (٥٦). اما دقيق‌ترين نشانگرهاي DNA، توالي جايگاه‌هاي نشانمند STS[3] است كه اين نشانگرها يك توالي يگانه، كوتاه و تكثير يافته توسط واكنش زنجيره‌ای پلی‌مراز با جايگاه معين بر روي يك كروموزوم خاص می‌باشند. نشانگرهای STS در تهيه نقشه ژنوم انسان بطور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. يكي از اين نشانگرها CAPS[4] مي‌باشد كه به علت داشتن ويژگي‌هاي همچون توارث همبارز، چندشكلی قابل مشاهده، مقدار كم DNA مورد نياز و اطمينان و اعتماد بالايي كه دارد، كاربرد آن رو به گسترش است (٦٢). تحقيق حاضر با توجه به خصوصيات ويژه لوبيا به عنوان يك لگوم مهم از نظر غذايي و سطح زير كشت بالاي آن در ايران، با هدف تهيه نقشه پيوستگي آن با استفاده از اينبرد لاين‌هاي نوتركيب F_6 جهت استفاده در پژوهش‌هاي مولكولي و به‌نژادي نوين، انجام گرفت.

١-٢-كليات و مرور منابع

١-٢-١- حبوبات و خصوصيات اكولوژيكي آنها

بطور كلي اين زير تيره به دو دسته حبوبات سردسيري و گرمسيري تقسيم مي‌شوند و نياز-هاي حرارتي گوناگوني دارند كه دوره رشد حبوبات گرمسيري طولاني‌تر مي‌باشد. حبوبات نسبت به غلات رطوبت بيشتري نياز دارند. بخصوص در مرحله جوانه زني تا حدود ١٠٠% وزن دانه به آب نياز دارند. ضريب تعرق در حبوبات از ٤٠٠ تا ٩٠٠ ليتر آب متفاوت است. حبوبات به خاك‌هاي نه خيلي سنگين و نه خيلي سبك كه غني از ازت، فسفر، كلسيم و پتاسيم باشند و قابليت پذيرش آب و اكسيژن بالايي داشته باشند نياز دارند. همچنين در خاك‌هاي هوموسي با اسيديته ٦ تا ٨ رشد مطلوبي دارند. لگومينوزه بويژه گياهاني مانند لوبيا نياز زيادي به ازت، پتاسيم، فسفر و كلسيم دارند، همچنين به عناصر كم مصرفي مثل آهن، منگنز، روي، بر و موليبدن نيز نياز دارند (٢٧).

١-٢-٢- اهميت غذايی لوبيا

[1] Random Amplified Polymorphism DNA
[2] Inter Simple Sequence Repeat
[3] Sequence Tagged Sites
[4] Cleved Amplified Polymorphism Sequence

دانه لوبيا داراي طيف وسيعي از تركيبات شامل مواد معدني، ويتامين‌ها، پروتئين‌ها و ديگر تركيبات شيميايي مي‌باشد (۱۲۵، ۱۸، ۲۸). اين گياه بدليل داشتن پروتئين بالا از اهميت ويژه‌اي از نظر تكميل جيره غذايي در كنار پروتئين‌هاي حيواني برخوردار است. ظرف ۱۵ سال گذشته، پيشرفت‌هاي قابل ملاحظه‌اي در زمينه شناسايي خصوصيات، كمي كردن و مطالعه ژنتيك پروتئين‌هاي عمده ذخيره‌اي لوبياي زراعي و خويشاوندان وحشي آن صورت گرفته است (٦٥).

گياه لوبيا بدلايل بسياري از جمله: تنوع در تيپ‌هاي آن، سازگاري و پراكندگي بالا و مناسب در سراسر دنيا، توانايي پرورش در سيستم هاي مختلف كشت و توانايي تثبيت ازت، امكان كاربرد در توسعه كشاورزي پايدار، كم بودن ميزان مواد ضد تغذيه‌اي، فقدان كلسترول در آن و دارا بودن مقادير قابل توجه از برخي مواد معدني، اسيدهاي چرب، هيدرات‌هاي كربن، دارا بودن بيشترين ميزان پروتئين و اسيدهاي آمينه ضروري و ميزان كالري در بين ساير حبوبات و همچنين عواملي مانند: گوناگوني در آماده سازي غذاهاي مختلف (مثل كنسرو شده)، تنوع و عموميت محصولات توليدي از لوبيا (چيپس، كرو و يا سوپ)، توانايي مصرف لوبياي خشك به حالت‌هاي مختلف مثل آرد شده و در نهايت اهميت براي تغذيه دام، در كل دنيا مهمترين حبوبات و حتي در بسياري از نقاط بعد از گندم و برنج اساسي‌ترين تركيب غذايي انسان مي‌باشد (۱۷۲).

۱-۲-۳- رده بندي گياهي لوبيا

اين گياه كه در زبان فارسی به آن لوبيای سبز يا لوبيای زراعی گفته می‌شود از جنس فازئولوس[1] با منشا آمريكا می‌باشد. اين جنس داراي ۵۵ گونه و متعلق به زير قبيله فازئولين[2] است كه آن نيز در قبيله فازئوله[3] و در زيرخانواده پاپيلونوئيده[4] و خانواده لگومينوزه[5] قرار دارد (۱۵۰، ۱۱٤).

در جنس*Phaseolus* پنج گونه زراعي با جد خودش و ۵۰ گونه حقيقي وحشي وجود دارد كه همه غير از يك گونه ديپلوئيد هستند. گونه‌هاي زراعي اين جنس عبارتند از:

الف) *Phaseolus vulgaris* L.: با اسامي عمومي Haricot bean، Dry bean، Snap bean و Common bean كه اكثر ارقام مورد كشت در دنيا از اين گونه هستند.

ب) *Ph. Lunatus* L.: با اسامي عمومي Habalima bean، Sieva bean و Lima bean بصورت وحشي در كوه‌هاي مكزيك مي‌رويد و بذرهاي آن صاف، درشت، سفيد يا رنگين هستند.

[1] *Phaseolus*
[2] Phaseoline
[3] Phaseoleae
[4] Papilionoideae
[5] Leguminozae

ج) *Ph. Coccineus* L.: با اسامي عمومي Petacu vida bean، Ayocote bean، Scarlet و Runner bean كه گل‌هاي آن رنگي و به عنوان گياه زينتي كشت مي‌شوند. بذر آنان درشت و به ويروس موزاييك معمولي لوبيا مقاوم هستند.

د) *Ph. Acutifolus Asagray*: با نام عمومي Tepary bean كه داراي منشا مناطق خشك جنوب غربي ايالات متحده مي‌باشد و به خشكي تحمل بالايي دارد، علاوه بر اين داراي مقاومت ويژه‌اي نسبت به بيماريهاي باكتريايي است.

ه) *Ph. Polyanthus Green man*: با نام عمومي Year bean كه به بيماري‌هاي ويروسي مقاومت دارند (۱۸).

بر اساس تحقيقات انجام شده لوبياي زراعي از دورگ گيري بين دو يا سه گونه شامل گونه‌هاي *Ph. coccineus* و اجداد وحشي آن و همچنين اجداد وحشي *Ph. vulgaris* حاصل شده است (۷۷).

۱-۲-٤- ژنتيك لوبيا

گونه زراعي *Ph. vulgaris* هر دو نوع لوبياي خشك و سبز را شامل مي‌شود. اگر چه جستجو براي جمع آوري ژرم پلاسم هنوز ادامه دارد، با اين وجود بيش از ٤۰۰۰۰ نمونه از گونه‌هاي زراعي، وحشي و خويشاوند لوبيا در بانك‌هاي ژرم پلاسم مركز تحقيقات بين المللی گياهان گرمسيری واقع در كالی كلمبيا[1] در كلمبيا و ديگر مراكز موجود است. در بين انواع زراعي لوبيا، گونه *Ph. vulgaris* L. تنوع زيادي از نظر سازگاري، صفات زراعي، مورفولوژيكي و ساير صفات دارد. از اواخر قرن نوزدهم بود كه دانشمندان منشا دنياي جديد را براي لوبيای معمولي پذيرفته‌اند. بر اساس مشاهدات بدست آمده از بقاياي باستاني كه ابتدا از پرو و سپس از جنوب غربي ايالات متحده بدست آمد، ويتماك (۱۸۸۰) نتيجه گرفت كه لوبيا از اين ناحيه منشا گرفته است (۱۹٥). اين نتيجه گيري برخلاف عقايدي بود كه از مدت‌ها قبل منشا اين گياه را آسيا مي‌دانستند. به عنوان مثال لينه (۱۷٥۳) منشا *Ph. vulgaris* را هندوستان معرفي نموده بود (۱۱۹).

الگوي تنوع براي اين صفات در مراكز اوليه اهلي شدن آنها در آمريكاي مركزي و جنوبي تعريف شده است. تنوع مطلوب ژنتيكي زيادتري نيز از انواع وحشي اين جنس و ديگر گونه‌ها به لوبياي زراعي منتقل شده، همچنين بر اثر موتاسيون نيز تنوع‌هايي ايجاد شده است (٤٦). در صورتي كه نقشه ژنوم لوبيا كامل شود و تمام ذخاير ژنتيكي مطلوب آن شناسايي و معين گردد، مي‌توان از تنوع ژنتيكي طبيعي و مصنوعي موجود در خزانه‌هاي ژني اوليه، ثانويه و ثالثيه بطور موثرتري در مطالعات ژنتيكي و به‌نژادي بهره گرفت (۱۸). تمامي گونه‌هاي اين جنس داراي ۲۲= $2x$ = $2n$ كروموزم هستند (۱۱۱).

[1] Center of International Agricultur Tropical (CIAT)

به دلايل مختلفی از جمله: كوچك بودن كروموزم‌هاي لوبيا و در اختيار نبودن منابع ژنتيكي مناسب، بوجود آمدن نولي سومي‌ها، مونوسومي‌ها، تريسومي‌ها، جابجايي‌ها و ديگر تغييرات كروموزمي، تهيه نقشه ژني در لوبيا به سهولت امكان پذير نيست. در نتيجه علي‌رغم تاريخچه طولاني تحقيق بر روي لوبيا فقط تعداد كمي از ژن‌های آن شناخته و از اين تعداد نيز، تعداد كمی تعيين مكان شده‌اند كه از جمله می‌توان تعيين صفات كمي در لوبيا توسط تاران و همكاران (۲۰۰۲) را نام برد. چنانچه استفاده از نشانگرهاي مولكولي بيشتر مورد توجه قرار گيرد مي-توان انتظار داشت كه تهيه نقشه پيوستگی اشباع ژنوم[1] لوبيا تسريع شود (۱۸).

۱-۲-۵- اهلي شدن و تكامل لوبيا

بيش از يك دوره زماني حداقل ۷۰۰۰ تا ۸۰۰۰ ساله، لوبيا از شكل وحشي و پيچان كه در مناطق مرتفع آمريكاي مركزي و آند پراكنده بود به صورت يك گياه مهم زراعي و خوراكي درآمد و هم اكنون نيز در سطح جهاني در گستره وسيعي از محيط‌ها و نظام‌هاي زراعي مي-روید (۱٤٦). طي اين دوره كه در بر گيرنده مرحله اوليه اهلي شدن و تكامل بعدي تحت اثر زراعت بود، نيروهاي تكاملي، جهش، گزينش، مهاجرت و رانده شدن ژنتيكي، تاثير خود را بر روي مواد خام حاصل از فرم وحشي نشان دادند. اين نيروها تغييرات شگرفي را در لوبيا به وجود آوردند و خصوصيات مورفولوژيكي، فيزيولوژيكي و ژنتيكي ارقام امروزي لوبيا را پديد آوردند (۱۸). پس از اهلي شدن، ارقام لوبيا به ديگر نقاط جهان معرفي شده‌اند. داده‌هاي ژنتيكي بر اساس تنوع فازئولين و صفات ديگر مانند اندازه بذر اطلاعات زيادي در مورد مسيرهاي ممكن اين پراكندگي در اختيار قرار مي‌دهد (٦٥).

۱-۲-٦- تغييرات ژنتيكی

شايد بيشترين تغييرات متمايز كننده تيپ‌هاي وحشي از زراعي از نظر مورفولوژيكي باشد. اين تغييرات بر هر دو قسمت رويشي و زايشي اثر گذاشته است. در قسمت رويشي مهمترين تغيير در تيپ رشدي بوده است. تيپ رشدي بالارونده لوبياي وحشي نوعي سازگاري به محيط زيست خاص آن می‌باشد. تكامل اين گياه از حالت بالارونده به گياهان كوتاه در مراكز اهلي شدن اين گياه در آمريكاي مركزي و آند اتفاق افتاده است. درطی تكامل مهمترين تغييراتی كه در قسمت زايشي اتفاق افتاده است شامل: حذف ريزش طبيعي بذور بعد از رسيدن در گياهان زراعي، توليد بذور كمتر اما بزرگتر توسط ارقام اهلي و كاهش ميزان دگرگشني بوده است (۱۹۱). لوبياهاي وحشي به علت داشتن پوسته بذر نفوذ ناپذير داراي خواب بذر بوده ولي ارقام جديد فاقد خواب بذر هستند و در صورت وجود شرايط مطلوب بطور يكنواخت جوانه مي‌زنند (۱۸). همچنين لوبياهاي وحشي معمولاً به دوره‌ی نوری حساسيت دارند. همانند ديگر لگوم‌هاي

[1] Saturated linkag map

با منشا گرمسيري، فقط در روزهاي كوتاه گل مي‌دهند اما در ارقام اهلي اين حساسيت تا حد زياد و يا كامل از بين رفته است (٤١).

تيپ رشدي و تيپ بذري دو صفتي هستند كه بدون شك در بين ارقام بيشترين تنوع را نشان مي‌دهند. از سوي ديگر مقدار فازئولين در مقايسه با ارقام زراعي در بين ارقام وحشي تنوع زيادي را نشان مي‌دهد. تيپ رشدي و بذر تحت اثر انتخاب انسان است اما در مورد فازئولين انسان نقشي نداشته است (٨٨).

به غير از صفت اندازه بذر، بيشتر صفاتي كه مي‌توانند لوبياي وحشي و زراعي را از هم متمايز سازند مانند تيپ رشدي محدود، طول ميانگره، تعداد گره، حساسيت به دوره‌ی نوری و غيره توسط تعداد محدودي ژن با اثر فنوتيپي مشخص كنترل مي‌شوند. حتي براي صفت اندازه بذر كه گمان مي‌رود يك صفت چند ژني باشد لوكوس منفرد با اثرات واضح شناسايي شده است (١٨).

١-٢-٧- منابع ژنتيكي لوبيا در دنيا و ايران

در مركز تحقيقات بين المللي گياهان گرمسيري كه فعاليت رسمي خود را از سال ١٩٧٧ ميلادي بطور رسمي آغاز كرده است بيش از ٤٠٠٠٠ نمونه به عنوان ژرم پلاسم لوبيا نگهداري مي‌شود (١٨). بي دابليو اسكروچ (١٩٩٨) با مطالعه بيش از ٢٤٠٠٠ نمونه لوبياي معمولي موجود در ژرم پلاسم مركز سيات و با استفاده از نشانگرهای مولكولی دريافت كه ساختار ژنتيكي هسته مركزي ژرم پلاسم سيات نشان دهنده ساختار ژنتيكي مجموعه جمع آوري شده لوبيای معمولي در كلكسيون مي‌باشد (١٧٣، ٢٠١).

گياه لوبيا در حقيقت بومي ايران نيست و از قاره آمريكا وارد شده است اما در طي سال‌ها مورد كشت و كار قرار گرفته و به صورت بومي در آمده است. ژرم پلاسم لوبيا كه از مناطق جغرافياي مختلف ايران جمع آوري شده‌اند در بانك‌هاي ژن دانشكده‌ها و مراكز تحقيقاتي گوناگوني نگهداري مي‌شوند كه مهمترين آنها بانك ژن گياهي ملي ايران در موسسه تحقيقات اصلاح و تهيه بذر و نهال وابسته به وزارت جهاد كشاورزي ايران مي‌باشد. در اين بانك در حدود ١٨٧٣ نمونه تاكنون جمع آوري شده است و به عنوان ژرم پلاسم لوبيا در ايران محافظت مي‌شود. همچنين تعداد ٧٥٠ توده كلكسيون براي صفات مورفولوژيكي ارزيابي شده است كه هر ساله نسبت به جمع آوري نمونه‌هاي جديدتر و ارزيابي‌هاي مقدماتي، تكميلي و احيا منابع ژنتيكي موجود اقدام مي‌شود (٣٢).

به‌نژاد گران در ايران سه تيپ زراعي مهم را كه عبارتند از چيتي، قرمز و سفيد در نظر گرفته‌اند كه همگی از گونه *Ph. vulgaris* مي‌باشند (١٠).

١-٢-٨- مورفولوژي لوبيا

مورفولوژي در حقيقت شكل ظاهري گياه است كه شامل صفات و خصوصيات اختصاصي هر گياه مي‌باشد و براي شناسايي و ارزيابي گونه‌ها و ارقام استفاده مي‌شود.