دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

اصلاح نباتات

**عنوان پایان نامه**

# ارزیابی تنوع ژنتیکی یونجه دائمی با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناسی، سیتوژنتیکی، شیمیایی، بیوشیمیایی و بررسی پارامترهای مقاومت به خشکی

اساتید راهنما:

دکتر عزت‌اله فرشادفر

دکتر محسن فرشادفر

نگارش:

سیدمصطفی مرتضوی

دی ماه ۱۳۸۶

۹۳۵۶۶

**کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و**
**نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه**
**متعلق به دانشگاه رازی است.**

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

# پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات

سیدمصطفی مرتضوی

## تحت عنوان:

# بررسی تنوع ژنتیکی یونجه دائمی با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناسی، سیتوژنتیکی، بیوشیمیایی، شیمیایی و بررسی پارامترهای مقاومت به خشکی

۱۳۸۷ /۱/ ۱۸

در تاریخ ۸۶/۱۰/۱۱ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای اول دکتر عزت‌اله فرشادفر با مرتبه علمی استادیار

۲- استاد راهنمای دوم دکتر محسن فرشادفر با مرتبه‌ی علمی استادیار

۳- استاد داور داخل گروه دکتر دانیال کهریزی با مرتبه علمی استادیار

۴- استاد داور خارج گروه دکتر سیدحسین صباغ‌پور با مرتبه علمی استادیار

**سپاس و قدردانی**

اراده او مستلزم هر نفسی است پس سپاس می گویم این درگاه بیکران را به موجب الطافش، اما خود سپاس بر درگاهش را منوط به سپاس از بندگانش می داند « لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق » پس سپاس می گویم اول آنان را که هر گامی را با توسل به آنان برداشتم و بعد از عزیز ترین کسانم – **پدر، مادر و خواهرم** – که در طی مسیر زندگی یار و یاورم بوده اند کمال تشکر و قدر دانی را دارم.

از آقایان **دکتر عزت الله فرشاد فر** و **دکتر محسن فرشاد فر**، اساتید محترم راهنمایم که در طی انجام پروژه پایان نامه از دانش و راهنمایی های آنها استفاده کردم کمال تشکر و قدردانی را دارم و امیدوارم که نتیجه تحقیق رضایت خاطر ایشان را فراهم کرده باشد.

همچنین از آقایان **دکتر دانیال کهریزی** و **سید حسین صباغ پور** که زحمت مطالعه ، تصحیح و داوری پایان نامه را تقبل نمودند ، نهایت سپاس گذاری را دارم .

از همکاری **دکتر کیانوش چقامیرزا**، مدیریت محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات و سایر اساتید گروه تشکر و قدر دانی می کنم.

در این راستا جا دارد از پرسنل محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه به ویژه آقای **مهندس هوشمند صفری** نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشم.

در پایان لازم می دانم از سرکار **خانم مهندس نداف** و آقایان **مجید حلیمی، علی مرادی پیام، بهنام آریان، داوود کاظمی، حمید لطفی، مهدی احمد زاده، هادی میرحسینی، محمود رضا یزدانی** و سایر دوستان گرامیم که همواره از طول این تحقیق مشوق من بوده اند سپاسگزاری نمایم.

تقدیم به:

**پدرم**

تندیس شکیبایی زندگی‌ام

**مادرم**

وجودم برایش همه درد بود و وجودش برایم همه مهر

خواهرم

واژه قشنگ زندگی‌ام

## چکیده:

یونجه (*Medicago sativa* L.) سطح وسیعی از مزارع و مراتع کشور را به خود اختصاص داده است و دارای پتانسیل های مهمی چون عملکرد بالا، قابلیت تثبیت ازت و ... می باشد. بنابراین مطالعات در خصوص اصلاح این گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

در این بررسی به منظور تعیین تنوع ژنتیکی، ۱۲ ژنوتیپ از گونه *Medicago sativa* مورد بررسی های مورفولوژیکی، سیتوژنتیکی، الکتروفورز پروتئین های ذخیره ای برگ، تجزیه ترکیبات شیمیائی- تغذیه ای و بررسی پارامترهای مقاومت به خشکی قرار گرفتند.

بر اساس مطالعه صفات مورفولوژیکی ارتفاع گیاه، تعداد ساقه، وزن تر و وزن خشک آنالیز تجزیه خوشه ای بر روی ژنوتیپ ها انجام شد و این ژنوتیپ ها در چهار گروه قرار گرفتند.

جهت بررسی صفات کاریوتیپی در بین ژنوتیپها، مطالعات سیتوژنتیکی صورت گرفت و صفات طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول کل کروموزوم، نسبت طول بازوی بلند به کوتاه و طول بازوی کوتاه به بلند درصد شکل کلی (%TF)، تمامی ژنوتیپ ها دارای ۳۲ کروموزوم بودند. تجزیه واریانس در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد و تمامی صفات اندازه گیری شده در سطح ۱٪ تفاوت معنی داری نشان دادند. پس از تایید اختلاف بین ژنوتیپ ها توسط تجزیه واریانس داده ها، با استفاده از آزمون دانکن ژنوتیپ ها مورد مقایسه و دسته بندی قرار گرفتند. همچنین نسبت هائی چون اختلاف طول نسبی(DRL) ، مقدار نسبی کروماتین(VRC)، شاخص رومرو زارکو ($A_1$) و ضریب پراکندگی پیرسون($A_2$) که این نسبتها نشان دادند که ژنوتیپ های ۱۵۲۹ و ۲۴۸ دارای متقارن ترین و ژنوتیپ همدانی نامتقارن ترین ژنوتیپ را داشتند. تجزیه کلاستر نیز انجام گردید که بر این اساس ژنوتیپ ها در ۳ گروه قرار گرفتند. تجزیه به مولفه های اصلی نیز نشان داد که بیشترین میزان واریانس در بین صفات سیتوژنتیکی توسط اختلاف در طول بازوی کوتاه و طول کل کروموزوم ها توجیه می شود.

در این تحقیق، جهت بررسی الگوی باندی پروتئین های ذخیره ای بذر، از متد SDS-PAGE استفاده شد. در ژل ایجاد شده ۱۳ باند مشاهده شد که از این میان ۷ باند پلی مورف و ۶ باند مونو مورف بودند. با استفاده از تجزیه کلاستر ژنوتیپ ها در ۴ گروه قرار گرفتند.

تجزیه ترکیبات شیمیایی- تغذیه ای نیز نشان داد که ژنوتیپ های یاد شده توسط تجزیه ای خوشه ای در ۴ گروه قرار گرفتند. تجزیه عاملی بر مبنای مولفه های اصلی بر روی صفات شیمیائی نشان داد که صفات درصد پروتئین خام، درصد فسفر و درصد پتاسیم، بترتیب بیشترین تنوع را دارند.

در ادامه، جهت ارزیابی میزان تحمل یونجه نسبت به تنش خشکی در مرحله جوانه زنی ژنوتیپ ها در ۴ سطح پتانسیل آب (صفر، ۴- ۸- و ۱۲- بار)، مورد آزمون جوانه زنی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با کاهش پتانسیل آب (صفر به ۱۲- بار) ،درصد جوانه زنی نهائی(FGP)، سرعت جوانه‌زنی (GR)، وزن تر (WW) و وزن خشک (WD)، بطور معنی دار (در سطح ۱٪) کاهش یافتند.پتانسیل های آب ۴- و ۸- بار تفاوت بین ارقام را بهتر آشکار نمود.



**واژگان کلیدی:** یونجه، ریخت شناسی، سیتوژنتیک، بیوشیمیایی، تجزیه شِمیایی، پارامترهای مقاومت به خشکی

فهرست مطالب

عنوان صفحه

## فصل اول: مقدمه و بررسی منابع


۱-۱- مقدمه ..... ۲
۱-۲-رده بندی مدیکاگو ..... ۳
۱-۲-۱-کلید شناسایی مدیکاگو ..... ۳
۱-۲-۲- نام های متداول یونجه ..... ۳
۱-۲-۲-۱- نام علمی ..... ۳
۱-۲-۲-۲- نام متداول ..... ۴
۱-۳- تاریخچه و پراکنش یونجه در جهان ..... ۴
۱-۴- عوامل موثر در گسترش یونجه در طی قرن بیستم ..... ۵
۱-۵- پراکنش زیر گونه های وحشی و ارقام بومی و زراعی یونجه ..... ۷
۱-۶- قابلیتهای یونجه ..... ۸
۱-۷- اکولوژی یونجه ..... ۹
۱-۷-۱- مقاومت به خشکی ..... ۹
۱-۷-۲- درجه حرارت ..... ۱۰
۱-۷-۳- قدرت زمستان گذرانی ..... ۱۰
۱-۷-۴- نور ..... ۱۱
۱-۷-۵- فصل رشد ..... ۱۱
۱-۷-۶- خاک مناسب ..... ۱۱
۱-۸- خصوصیات درمانی یونجه ..... ۱۲
۱-۹- محدودیتهای یونجه ..... ۱۳
۱-۱۰- اهداف اصلاحی در یونجه ..... ۱۳
۱-۱۰-۱- نکات مهم در اصلاح یونجه ..... ۱۴
۱-۱۰-۲- گرده افشانی در یونجه ..... ۱۴
۱-۱۱- اصلاح یونجه ..... ۱۵
۱-۱۱-۱- انتخاب توده ای ..... ۱۵
۱-۱۱-۲- واریته های سنتتیک (ارقام ساختگی) ..... ۱۶
۱-۱۱-۲-۱- مراحل ایجاد رقم ساختگی ..... ۱۶

۱-۱۱-۳- واریته های مخلوط ..... ۱۷
۱-۱۱-۴- واریته های هیبرید ..... ۱۸
۱-۱۲- گونه ها و واریته های یونجه ..... ۱۸
۱-۱۳- الگوهای تنوع ..... ۱۸
۱-۱۳-۱- اهمیت تعیین تنوع ژنتیکی و شناسایی پلی مورفیسم بین گیاه..... ۱۸
۱-۱۳-۲- نشانگر های مورفولوژیکی..... ۱۹
۱-۱۳-۲-۱- بکارگیری نشانگرهای مورفولوژیکی در تعیین تنوع..... ۱۹
۱-۱۳-۲-۲- تاریخچه بکارگیری نشانگرهای مورفولوژیکی..... ۲۰
۱-۱۳-۳- بکارگیری نشانگرهای سیتوژنتیکی در تعیین تنوع..... ۲۱
۱-۱۳-۳-۱- کروموزوم ..... ۲۲
۱-۱۳-۳-۲- کاریوتیپ ..... ۲۳
۱-۱۳-۳-۳- ویژگیهای کاریوتیپی مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی..... ۲۳
۱-۱۳-۳-۴-تقسیم بندی کروموزوم ها بر اساس محل قرار گرفتن سانترومر..... ۲۴
۱-۱۳-۳-۵- تقارن کاریوتیپ ..... ۲۴
۲-۱۳-۳-۵- مقایسه تقارن کاریوتیپ ..... ۲۴
۱-۱۳-۳-۶- تکامل کاریوتیپی ..... ۲۶
۱-۱۳-۳-۷- مشخصات کاریوتیپی یونجه ..... ۲۷
۱-۱۳-۳-۸- تاریخچه بکارگیری نشانگرهای سیتوژنتیکی ..... ۲۸
۱-۱۳-۴- بکارگیری نشانگرهای پروتئینی در تعیین تنوع ..... ۳۰
۱-۱۳-۴-۱- تاریخچه بکارگیری نشانگرهای بیوشیمیائی ..... ۳۰
۱-۱۳-۴-۲- الکتروفورز ..... ۳۱
۱-۱۳-۵- بکارگیری نشانگرهای شیمیائی در تعیین تنوع..... ۳۳
۱-۱۳-۵-۱- ارزش غذائی یونجه..... ۳۳
۱-۱۳-۵-۲- روش‌های ارزشیابی مواد خوراکی ..... ۳۴
۱-۱۳-۵-۳- ترکیبات شیمیائی گیاه یونجه ..... ۳۴
۱-۱۳-۵-۴- تاریخچه بکارگیری نشانگرهای شیمیائی ..... ۳۵
۱-۱۳-۵-۵- روش تجزیه کمی بر اساس تعیین نسبت د اجزای تشکیل دهنده..... ۳۶
۱-۱۳-۶- بررسی پارامتر های مقاومت در برابر تنش های اسمزی..... ۴۱

۱-۱۳-۶-۱-روشهای اعمال خشکی در گلخانه و آزمایشگاه و شرایط مزرعه ای و تاریخچه آن ..... ۴۱
۱-۱۳-۶-۲- خصوصیات فیزیولوژیکی مرتبط با خشکی ..... ۴۳
۱-۱۴- روش های آماری محاسبهٔ تنوع ژنتیکی ..... ۴۳
۱-۱۴-۱- تجزیه خوشه ای ..... ۴۳
۱-۱۴-۲- تجزیه به مولفه های اصلی ..... ۴۶
۱-۱۴-۳- تجزیه تابع تشخیص ..... ۴۸
**فصل دوم: مواد و روشها**
۲-۱- محل و موقعیت اجرای آزمایشات مزرعه ای ..... ۵۰
۲-۲- طرح آزمایش ..... ۵۰
۲-۳- مواد گیاهی ..... ۵۱
۲-۴- مرحله داشت ..... ۵۱
۲-۵- صفات مورد مطالعه ..... ۵۱
۲-۵-۱- صفات مورد مطالعه در مزرعه ..... ۵۱
۲-۵-۲- مطالعات سیتوژنتیکی ..... ۵۲
۲-۵-۲-۱- تهیه محلولهای مورد نیاز ..... ۵۲
۲-۵-۲-۲- روش کار ..... ۵۳
۲-۵-۲-۳- عکس برداری و اندازه گیری طول کروموزوم ها ..... ۵۶
۲-۵-۲-۴- مقایسه تقارن کاریوتیپی ..... ۵۸
۲-۵-۳-تجزیه شیمیایی مواد غذایی و مواد معدنی بر مبنای ماده خشک ..... ۵۸
۲-۵-۳-۱- چگونگی تعیین در صد ماده خشک ..... ۵۹
۲-۵-۳-۲- تعیین در صد پروتئین خام ..... ۶۰
۲-۵-۳-۳- طرز تعیین در صد الیاف (فیبر- خام ..... ۶۰
۲-۵-۳-۴- تعیین در صد خاکستر ..... ۶۱
۲-۵-۳-۵- تعیین در صد ماده آلی ..... ۶۲
۲-۵-۳-۶- تعیین در صد عناصر معدنی ..... ۶۲
۲-۵-۳-۶-۱- اندازه گیری فسفر ..... ۶۲
۲-۵-۳-۶-۲- روش اندازه گیری سایر مواد معدنی ..... ۶۳
۲-۵-۴- مطالعات الکتروفورزی ..... ۶۳

۲-۵-۴-۱- مواد و روش ها ..... ۶۳
۲-۵-۴-۲-محلولهای مورد نیاز برای SDS-PAGE ..... ۶۳
۲-۵-۴-۳- روش تهیه ژلهای فوقانی و تحتانی ..... ۶۵
۲-۵-۴-۴- مراحل آماده سازی ژل ..... ۶۷
۲-۵-۴-۵- رنگ آمیزی ژل پلی آکریلامید ..... ۶۸
۲-۵-۴-۶-تعیین حرکت نسبی و درصد تشابه با استفاده از مطالعات
چشمی در الکتروفورز پروتئینها ..... ۷۰
۲-۵-۵- بررسی پارامترهای مقاومت به خشکی ..... ۷۰
**فصل سوم: نتایج و بحث**
۳-۱- بررسی نتایج حاصل از مطالعات مورفولوژیکی ..... ۷۳
۳-۱-۱- نتایج تجزیه وایانس و مقایسه میانگین ها ..... ۷۴
۳-۱-۲- بررسی همبستگی بین صفات ..... ۷۵
۳-۱-۳- همبستگی بین صفات مورفولوژیکی و ترکیبات شیمیایی- تغذیه ای ..... ۷۵
۳-۱-۴- همبستگی بین صفات مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی ..... ۷۶
۳-۱-۵- تجزیه خوشه ای ..... ۷۰
۳-۲- بررسی نتایج حاصل از مطالعات سیتوژنتیکی ..... ۷۹
۳-۲-۱- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۲۰۲۵۲ یا۸۲۵ ..... ۷۹
۳-۲-۲- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۲۵۶۹ یا ۶۹۲ ..... ۸۱
۳-۲-۳- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۲۴۸ یا ۱۵۳۱ ..... ۸۳
۳-۲-۴- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۲۰۲۶۳ یا۱۴۸۳ ..... ۸۵
۳-۲-۵- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۳۲۸ یا ۱۵۳۴ ..... ۸۷
۳-۲-۶- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۱۱۶۲ یا ۴۷۲ ..... ۸۹
۳-۲-۷- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۲۱۲۲ یا۱۴۸۱ ..... ۹۱
۳-۲-۸- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۱۵۲۹ یا۱۰۹۷ ..... ۹۳
۳-۲-۹- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۰۰۱۲ یا۱۴۵۷ ..... ۹۵
۳-۲-۱۰- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۳۳۷ یا ۳۸۳ ..... ۹۷
۳-۲-۱۱- نتایج ژنوتیپ (*Medicago sativa*-۱۹۰ یا۲۳۴ ..... ۹۹
۳-۲-۱۲- نتایج ژنوتیپ شاهد (یونجه همدانی) ..... ۱۰۱
۳-۲-۱۳-تجزیه آماری داده های سیتوژنتیکی ..... ۱۰۳

۳-۲-۱۳-۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها ..... ۱۰۳
۳-۲-۱۳-۲- بررسی همبستگی بین صفات ..... ۱۰۴
۳-۲-۱۳-۳- تجزیه به مؤلفه های اصلی ..... ۱۰۷
۳-۲-۱۳-۴- تجزیه خوشه ای ..... ۱۰۸
۳-۳- بررسی نتایج حاصل از تجزیه مواد تغذیه ای و شیمیایی ..... ۱۱۱
۳-۳-۱- تجزیه واریانس ..... ۱۱۱
۳-۳-۲- تجزیه به مؤلفه های اصلی و تجزیه عاملی ..... ۱۱۳
۳-۳-۳- تجزیه خوشه ای ..... ۱۱۴
۳-۳-۴- بررسی همبستگی بین صفات ..... ۱۱۵
۳-۴- بررسی نتایج حاصل از الکتروفورز پروتئین های ذخیره ای ..... ۱۱۷
۳-۴-۱- تجزیه خوشه ای ..... ۱۱۷
۳-۵- بررسی پارامتر های مقاومت به خشکی ..... ۱۱۸
۳-۵-۱- همبستگی بین پارامترهای مقاومت به خشکی و صفات سیتوژنتیکی ..... ۱۲۵
۳-۶- نتیجه گیری و پیشنهادات ..... ۱۲۷
مقایسه کلی نتایج حاصله با نتایج سایر مطالعات صورت گرفته ..... ۱۲۹
منابع ..... ۱۳۱

## فهرست جداول

**عنوان** **صفحه**

جدول(۱-۱) نامگذاری کروموزوم ها بر اساس روش لوان و همکاران ..... ۲۲
جدول (۱-۲) جدول دو طرفه استیبنز جهت مقایسه تقارن کاریوتایپ ..... ۲۵
جدول(۱-۳) میانگین میزان ترکیبات شیمیایی بوته کامل یونجه ..... ۳۴
جدول(۱-۴) مقادیر مناسب ترکیبات شیمیایی ..... ۳۶
جدول (۱-۵) میانگین میزان ترکیبات شیمیایی بخش های خوراکی یونجه ..... ۳۷
جدول(۲-۱) اسامی ژنوتیپ های مورد بررسی با ذکر مشخصات آنها ..... ۵۱
جدول(۲-۲) لیست صفات مورد مطالعه در شرایط مزرعه ..... ۵۲
جدول(۲-۳) صفات شیمیایی و تجزیه ای مورد مطالعه ..... ۵۹
جدول(۲-۴) مقادیر مواد مورد نیاز برای تهیه ژل جدا کننده با درصد معلوم ..... ۶۶

جدول (۳-۱) نتایج تجزیه واریانس مرکب برای صفات فنوتیپی ..... ۷۳
جدول(۳-۲) مقایسه میانگین ژنوتیپ های مورد بررسی از نظر صفت ارتفاع بوته ..... ۷۴
جدول(۳-۳) مقایسه میانگین مربوط به ۵ چین مورد بررسی ..... ۷۴
جدول(۳-۴) ماتریس ضرایب همبستگی صفات مورفولوژیکی ..... ۷۵
جدول (۳-۵) ماتریس ضرایب همبستگی صفات مورفولوژیکی و ترکیبات شیمیایی ..... ۷۶
جدول(۳-۶) ماتریس ضرایب همبستگی صفات مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی ..... ۷۷
جدول(۳-۷) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۲۰۲۵۲ ..... ۸۰
جدول(۳-۸) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۲۵۶۹ ..... ۸۲
جدول(۳-۹) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۲۴۸ ..... ۸۴
جدول(۳-۱۰) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۲۰۲۶۳ ..... ۸۶
جدول(۳-۱۱) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۳۲۸ ..... ۸۸
جدول (۳-۱۲) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۱۱۶۲ ..... ۹۰
جدول(۳-۱۳) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۲۱۲۲ ..... ۹۲
جدول(۳-۱۴) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۱۵۲۹ ..... ۹۴
جدول(۳-۱۵) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۰۰۱۲ ..... ۹۶
جدول (۳-۱۶) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۳۳۷ ..... ۹۸
جدول(۳-۱۷) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ ۱۹۰ ..... ۱۰۰
جدول(۳-۱۸) تجزیه کاریوتیپ ژنوتیپ همدانی ..... ۱۰۲
جدول(۳-۱۹) نتایج تجزیه کاریوتیپ ۱۲ ژنوتیپ مطالعه شده ..... ۱۰۳
جدول(۳-۲۰) نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی ..... ۱۰۴
جدول(۳-۲۱) مقایسه میانگین صفات کاریتیپی ..... ۱۰۵
جدول(۳-۲۲) ضرایب همبستگی فنوتیپی صفات کاریوتیپی اندازه گیری شده ..... ۱۰۵
جدول (۳-۲۳) ضرایب همبستگی صفات مرتبط با تقارن کاریوتیپی ..... ۱۰۶
جدول(۳-۲۴) نتایج حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی ..... ۱۰۷
جدول(۳-۲۵) مقادیر مولفه های اصلی حاصل از تجزیه به عامل ها بر روی صفات کاریتیپی ..... ۱۰۸
جدول(۳-۲۶) ماتریس فاصله بین ژنوتیپ ها بر اساس صفات سیتوژنتیک ..... ۱۱۰
جدول (۳-۲۷) نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات شیمیایی در بین ژنوتیپ ها ..... ۱۱۱
جدول(۳-۲۸) نتایج حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی صفات تغذیه ای- شیمیایی ..... ۱۱۲
جدول(۳-۲۹) مقادیر مولفه های اصلی حاصل از تجزیه به عامل ها بر روی صفات شیمیایی ..... ۱۱۳

جدول(۳-۳۰) ماتریس فاصله بین ژنوتیپ ها بر اساس صفات تغذیه ای – شیمیایی ..... ۱۱۶
جدول(۳-۳۱) ضرایب همبستگی فنوتیپی داده های مربوط به تجزیه شیمیایی اندازه گیری شده بین ژنوتیپ ها ..... ۱۱۶
جدول(۳-۳۲) باندهای حاصل از SDS-PAGE در ۱۲ ژنوتیپ مورد مطالعه ..... ۱۱۷
جدول(۳-۳۳) تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده ژنوتیپ های یونجه در شرایط کنترل شده تنش خشکی ..... ۱۱۹
جدول (۳-۳۴) مقایسه میانگین درصد جوانه زنی ژنوتیپ های یونجه در تیمارهای شاهد و ۳ سطح پتانسیل آب ..... ۱۱۹
جدول(۳-۳۵) مقایسه میانگین سرعت جوانه زنی ژنوتیپ های یونجه در تیمارهای شاهد و ۳ سطح پتانسیل آب ..... ۱۲۰
جدول(۳-۳۶)مقایسه میانگین وزن ترژنوتیپ های یونجه در تیمارهای شاهد و ۳ سطح پتانسیل آب ..... ۱۲۲
جدول(۳-۳۷) مقایسه میانگین وزن خشک ژنوتیپ های یونجه در تیمارهای شاهد و ۳ سطح پتانسیل آب ..... ۱۲۳
جدول (۳-۳۸) مقادیر مربوط به شاخص تنش جوانه زنی ..... ۱۲۴
جدول(۳-۳۹) ضرایب همبستگی پارامترهای مختلف مقاومت در برابر تنش خشکی ..... ۱۲۵
جدول(۳-۴۰) ماتریس ضرایب همبستگی پارامترهای مقاومت به خشکی و صفات سیتوژنتیکی ۱۲۶

## فهرست شکل ها

شکل(۱-۱) سیر انتشار یونجه در مناطق مختلف جهان ..... ۵
شکل(۱-۲) توزیع جغرافیایی ژرم پلاسم های یونجه وحشی نگهداری شده در کلکسیون NPGS ۷
شکل(۱-۳) توزیع جغرافیایی ژرم پلاسم های یونجه بومی نگهداری شده در کلکسیون NPGS.. ۷
شکل(۱-۴) توزیع جغرافیایی ژرم پلاسم های یونجه زراعی نگهداری شده در کلکسیون US .... ۷
شکل(۱-۵) مقایسه سیستم ریشه ای یونجه و ذرت ..... ۸
شکل(۱-۶) روش ایجاد یک رقم ساختگی ..... ۱۶
شکل(۱-۷) تصاویر تهیه شده از سلول های مرحله متافازی ..... ۲۲
شکل(۱-۸) کروموزوم های بزرگ آگروپایرون و یونجه ..... ۲۸

شکل(۱-۹) نحوه عمل SDS ..... ۳۱
شکل(۳-۱) بررسی همبستگی بین صفات ارتفاع بوته و تعداد ساقه با صفات حاصل از تجزیه شیمیایی .... ۷۶
شکل(۳-۲) چگونگی همبستگی میان عملکرد و صفات سیتوژنتیکی ..... ۷۷
شکل(۳-۳) دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای بر اساس صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه .. ۷۸
شکل(۳-۴) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۰۲۵۲ ..... ۷۹
شکل(۳-۵) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۰۲۵۲ ..... ۸۰
شکل(۳-۶) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۵۶۹ ..... ۸۱
شکل(۳-۷) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۵۶۹ ..... ۸۲
شکل(۳-۸) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۴۸ ..... ۸۳
شکل(۳-۹) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۴۸ ..... ۸۴
شکل(۳-۱۰) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۰۲۶۳ ..... ۸۵
شکل(۳-۱۱) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۰۲۶۳ ..... ۸۶
شکل(۳-۱۲) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۳۲۸ ..... ۸۷
شکل(۳-۱۳) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۳۲۸ ..... ۸۸
شکل(۳-۱۴) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۱۱۶۲ ..... ۸۹
شکل(۳-۱۵) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۱۱۶۲ ..... ۹۰
شکل(۳-۱۶) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۱۲۲ ..... ۹۱
شکل(۳-۱۷) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۲۱۲۲ ..... ۹۲
شکل(۳-۱۸) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۱۵۲۹ ..... ۹۳
شکل(۳-۱۹) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۱۵۲۹ ..... ۹۴
شکل(۳-۲۰) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۰۰۱۲ ..... ۹۵
شکل(۳-۲۱) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۰۰۱۲ ..... ۹۶
شکل(۳-۲۲) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۳۳۷ ..... ۹۷
شکل(۳-۲۳) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۳۳۷ ..... ۹۸
شکل(۳-۲۴) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ ژنوتیپ ۱۹۰ ..... ۹۹
شکل(۳-۲۵) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ ژنوتیپ ۱۹۰ ..... ۱۰۰
شکل(۳-۲۶) مرحله متافازی و تصاویر کاریوتایپ یونجه همدانی ..... ۱۰۱
شکل(۳-۲۷) آیدیگرام حاصل از کاریوتایپ یونجه همدانی ..... ۱۰۲
شکل(۳-۲۸) روند مخالف TF% و $A_1$ به عنوان دو شاخص نا متقارن بودن درون کروموزومی .. ۱۰۶

شکل(۳-۲۹) روند مشابه DRL و $A_2$ به عنوان دو شاخص نا متقارن بودن بین کروموزومی ..... ۱۰۶
شکل(۳-۳۰) مقادیر ضریب بردار هر یک از مولفه های اصلی اول، دوم و سوم در ژنوتیپ های مورد بررسی ..... ۱۰۸
شکل(۳-۳۱) دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای بر اساس صفات کاریوتایپی مورد مطالعه ۱۰۹
شکل(۳-۳۲) سهم هر یک از صفات شیمیائی مورد مطالعه در تشکیل مولفه اصلی اول و دوم ..... ۱۱۴
شکل(۳-۳۳) مقادیر ضریب بردار هر یک از مؤلفه های اصلی اول و دوم در ژنوتیپ های مورد بررسی ..... ۱۱۵
شکل(۳-۳۴) دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات تغذیه‌ای-شیمیایی مورد مطالعه .... ۱۱۵
شکل(۳-۳۵) دندروگرام مربوط به الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ... ۱۱۸
شکل(۳-۳۶) اثر تنش اسمزی (PEG) بر درصد جوانه‌زنی در ژنوتیپ‌های یونجه ..... ۱۲۰
شکل(۳-۳۷) اثر تنش اسمزی (PEG) بر سرعت جوانه‌زنی در ژنوتیپ‌های یونجه ..... ۱۲۱
شکل(۳-۳۸) اثر تنش اسمزی (PEG) بر طول گیاهچه در ژنوتیپ‌های یونجه ..... ۱۲۱
شکل(۳-۳۹) اثر تنش اسمزی (PEG) بر وزن خشک در ژنوتیپ‌های یونجه ..... ۱۲۴
شکل(۳-۴۰) چگونگی همبستگی میان صفت تنش خشکی و صفات سیتوژنتیکی ..... ۱۲۶

# فصل اول

## مقدمه و بررسی منابع

## ۱-۱- مقدمه

به نام خداوندی که امکان نگرش دقیقتر در خلقتش را به ما ارزانی داشت و همواره ما را به نگرش دقیقتر بر طبیعت پیرامونمان دعوت کرد، باشد که از اجابت کنندگان دعوتش باشیم.

تمام آمارها بیانگر حرکت جامعه جهانی به سمت گسترش روز افزون فقرو گرسنگی است. این در حالی است که از جمعیت قریب به ۷ میلیاردی جهان، ۸۰۰ میلیون نفر در فقر غذائی بسر می برند. در این میان کشور ما نیز مستثنی از این امر نیست. گزارش‌های موجود حاکی از آن است که حداقل ۶ میلیون نفر از جمعیت کشور دچار پوکی استخوان هستند. شیوع کم خونی در کودکان زیر ۲ سال کشور (۴۰ درصد) قابل ملاحظه است. ۱۱ درصد کودکان زیر ۵ سال کشور دچار کم‌وزنی متوسط و شدید و ۱۵ درصد آنان دچار کوتاه‌قدی تغذیه‌ای متوسط و شدید هستند. در حال حاضر، گروه‌هایی از جمعیت کشور ما دچار سوءتغذیه هستند. مسائل ناشی از بحران غذا در کشور عبارتند از: سوءتغذیه پروتئین ـ انرژی، کم‌خونی، فقر آهن، اختلالات ناشی از کمبود ید، کمبود روی، کلسیم، کمبود ویتامین‌های A، B2 و D که بشدت در بین اقشار مختلف قابل مشاهده است. این در حالی است که همه ما معتقد هستیم، دسترسی به غذای سالم و مغذی، دریافت غذای کافی و ضرورتاً رهایی از گرسنگی حق هر فرد جامعه است و ریشه‌کنی گرسنگی می‌بایست در کشور در اولویت قرار گیرد(۴).

نبایست فراموش کرد که، رفع نیازهای‌غذایی این جمعیت منجر به فشار روزافزون به منابع طبیعی پایه و نیز به نظام‌های کشاورزی درجهت افزایش هرچه بیش‌تر تولید می‌گردد. از طرفی نظام‌های تولیدی فعلی نیز پایدار نیستند ولذا بحران امنیت غذایی از مهم‌ترین چالش‌های بشری در آستانه هزاره جدید است. بنابراین می‌توان به گفته مایو(۱۹۸۰) اشاره داشت که، در این عصر کسی که بتواند دو خوشه گندم و یا دو بسته علوفه از زمینی برداشت کند که پتانسیل بالفعل آن زمین تا پیش از آن تولید یک خوشه گندم یا یک بسته علوفه بوده است، خدمتی چندین برابر بهترین سیاستمداران به مملکتش نموده است. دراین میان علی‌رغم توان بالقوه گیاهان علوفه ای در افزایش تولید، این گیاهان کمتر مورد توجه قرار گرفته اند بطوری که در طی چندین دهه اخیر افزایش عملکرد در گیاهان علوفه ای بویژه لگوم‌ها کمتر از ۰/۳٪ در سال بوده است(نقل‌از۳۱).

یونجه به عنوان پر محصول ترین گیاه علوفه ای و به دلیل داشتن پتانسیل هائی چون پایا بودن، سازگاری زیاد، قابلیت هضم مناسب، ارزش غذایی بالا، تاثیر مثبت بر تناوب زراعی، تثبیت ازت و.... بعنوان ملکه

گیاهان علوفه ای شناخته می شود(۸۶،۷۱،۷۰). این گیاه نه تنها در ایران بلکه در اکثر نقاط جهان بصورت گسترده مورد کشت وکار قرار می گیرد. بطوری که طبق گزارش سازمان آمار ایران سطح زیرکشت یونجه در ایران بالغ بر ۵۵۰۱۱۹ هکتار بوده است که از این میزان ۴۹۸۹۷۸ هکتار آن را کشت آبی و مساحتی بالغ بر ۵۱۱۴ هکتارنیز به کشت دیم اختصاص دارد. نکته حائز اهمیت این است که این مساحت حدود ۸٪ از مساحت اراضی زراعی ایران می‌باشد، که خود نشانگر تمایل کشاورزان و اهمیت این گیاه در کشور ما است(۵).

## ۱-۲- رده بندی مدیکاگو

### ۱-۲-۱- کلید شناسایی مدیکاگو

درکلیدشناسی و اهمیت گونه های مدیکاگو، مشخصات زیر برای گونه *Medicago sativa L.* (*M.sativa* subsp.*sativa*) ذکر شده است:

یونجه گیاهی دائمی با ریشه های عمودی (یونجه علاوه بر ریشه عمودی دارای دارای ریشه‌های جانبی نیز می باشد که این ریشه ها از سلولهای حاشیه استوانه مرکزی ریشه اصلی سرچشمه می‌گیرند) وساقه‌هائی که بصورت خوابیده یا عمودی رشد می‌کنند و از یک قاعدهٔ چوبی (طوقه) می رویند و دارای طولی مابین ۳۰ تا ۱۲۰ سانتی مترهستند. برگها بصورت مرکب و از نوع سه برگچه‌ای، گوشوارک‌ها بصورت مثلثی با طول۵ تا ۱۵ میلی متر می‌باشند که سطح زیرین آنها بصورت کرکدار می باشد و سطح روئی فاقد کرک می باشد. گل آذین متراکم و دارای آرایش خوشه ای می باشد و دارای ۱۰ تا ۳۵ گل می‌باشد(۳۵و۷۲). گلهای ارغوانی، اضلاع گلبرگ درفش موازی. غلافها با ۲ تا ۵ پیچ فشرده با قطر ۵ تا ۹ میلی‌متر می باشند(۴۸و۴۹).

رنگ گل در گونه *Medicago sativa* کم و بیش ارغوانی و در گونه *M.falcata* زرد تیره می باشد. رنگ گل در ارقام حاصل از هیبرید *M.falcata***M.sativa* ممکن است ارغوانی، سفید، زرد و... باشد و اصطلاحا این تیپهای یونجه را "الوان" می نامند با توجه به این نکته که تمامی ارقام زراعی موجود در نتیجه ایجاد تلاقی مدیکاگو ساتیوا و مدیکاگو فالکوتا ایجاد شده اند در نتیجه می توان آنها را جزء تیپ‌های الوان یونجه نام گذاری کرد(۳۷و۵۱).

### ۱-۲-۲- نام های متداول یونجه

#### ۱-۲-۲-۱- نام علمی

در منابعی قدیمی برای یونجه نام لاتین مدیکا را در نظر گرفته اند اما شارل‌لینه گیاه شناس سوئدی(۱۷۳۵) برای اجتناب از بکاربردن یک صفت ساده بعنوان اسم متعارف (ژنریک) نام یونجه را از مدیکا به "مدیکاگو" تغییر داد. بر همین اساس نیز یونجه معمولی تحت عنوان مدیکاگو ساتیوا (*M.sativa*) نامگذاری شد(۳۶).

### ۱-۲-۲-۲- نام متداول

در منابع مختلف اسامی مختلفی برای یونجه بکار رفته است بعنوان نمونه در ادبیات سانسکریت یونجه را "آشوا- بال"[1] می‌نامیدند، که به معنی قوت دادن به اسبها می باشد. همچنین در زبان عربی یونجه سبز با نام "رطب" و برای یونجه خشک از واژه "قت" استفاده شده است(۳۶).

از جمله اسامی که امروزه در زبان های مختلف برای یونجه بکار می روند می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد:

در زبان انگلیسی یونجه با نام های variegated Lucerne وLucerne در زبان فرانسوی luzerne bigarrée, luzerne intermédiaire، در زبان آلمانی bastardluzerne, sandluzerne، در زبان اسپانیائی alfalfa de las arenas, alfalfa hbrida و در آمریکا نیز یونجه تحت عنوان alfalfa نامیده می شود(۷۲و۷۹).

## ۱-۳- تاریخچه و پراکنش یونجه در جهان

یونجه بعنوان یکی از اولین گیاهان اهلی شده به دست انسان به حساب می آید که دارای تاریخچه‌ای طولانی است(۹۸). یونجه گیاهی باستانی است، بطوری که بذور سوخته آن در مناطق باستانی ایران با قدمتی بین ۸۰۰۰-۶۰۰۰ سال قبل مشاهده شده است(۹۷ و۹۸). همچنین در طی حفاری های باستان شناسی که در سوریه صورت گرفته است مشخص شده که بذور آن در بین بذور جمع آوری شده گراسها ولگوم ها در ۱۲۰۰۰ سال پیش وجود داشته است به هر ترتیب این مشاهدات سبب ارائه فرضیه‌ای شد که بر مبنی آن مصارف مختلفی از جمله استفاده از آن بعنوان خوراک انسان و دام درایران باستان مطرح می شود(۹۷).

با توجه به این شواهد و بر طبق اظهارنظر بسیاری از کارشناسان منشاء پیدایش یونجه ایران می باشد(۳۶). اما در مورد انتشار یونجه می‌توان گفت که گسترش یونجه همراه با جنگها، خطوط بازرگانی و... بوده است(۹۷).

یونجه احتمالا"در مناطق ترکمنستان امروزی، ایران، ترکیه وکوه های قفقاز اهلی شده است. و دارای تاثیر ویژه ای در تمدنهای بابلی، فارسی، یونانی و رومی بوده است. یونجه بر اساس گزارشات ۵۰۰ سال قبل از میلاد در طی حمله ارتش ماد، به یونان برده شد. ارتش ماد جهت تغذیهٔ اسبهای ارابه ها و اسبهای جنگی خود از یونجه استفاده می‌کردند. این سبب گرایش یونانیان به کشت یونجه گردید و آنها این محصول را در حوزه مدیترانه کشت نمودند. پس از آن، در ۱۲۶ سال قبل از میلاد امپراطوری چین یک هیئت جهت بررسی اسبهای ایرانی به ایران فرستادند.که بر این اساس یکی از عوامل موثر در کارائی اسبهای ایرانی تغذیه آنها توسط یونجه گزارش شد. این امر سبب گسیل یونجه به شرق گردید(۹۸). در دهه ۷۰۰ میلادی یونجه به

---

[1]. Ashwa-Bal