بسم الله الرحمن الرحيم

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

دانشگاه رازی
پردیس کشاورزی و منابع طبیعی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات

بررسی تنوع ژنتیکی یولاف با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی

استاد راهنما
دکتر صحبت بهرامی نژاد

استاد مشاور
دکتر کیانوش چقامیرزا

نگارش
سعید شیخه‌پور

تیر ماه ۱۳۹۰

دانشگاه رازی
پردیس کشاورزی و منابع طبیعی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات

سعید شیخه‌پور

بررسی تنوع ژنتیکی یولاف با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی

در تاریخ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنما دکتر صحبت بهرامی نژاد	با مرتبه ی علمی استادیار	امضاء
۲- استاد مشاور دکتر کیانوش چقامیرزا	با مرتبه ی علمی استادیار	امضاء
۳-استاد داور داخلی دکتر سعید جلالی هنرمند	با مرتبه ی علمی استادیار	امضاء
۴-استاد داور خارجی دکتر سعید پورداد	با مرتبه ی علمی دانشیار	امضاء

تقدیر و تشکر

سپاس آنرا که جان آفرید، خرد را برتر از جان آفرید. خداوند دانایی که بر بنده ناچیز خویش منت نهاد و نعمت زیستن عطا کرد و از پی آن، رحمت کسب علم و دانش. شکر خاص او بیت و قدردانی از بندگان او مزید موجب خوشنودی او "من لم یشکر الخلوق لم یشکر الخالق". این مهربان یکتای خالق را شکر می گوییم که نعمت بی حد و حصری به من ارزانی داشت و مرا در دامان پر مهر پدر و مادری دلسوز و فداکار پرورش داد، از این رو زحمات چندین و چند ساله، بی عوض و بی منت این عزیزان را قدر می نهم و از خداوند منان تندرستی و بهروزی ایشان را خواستارم. در کلام بعد تشکر می کنم از زحمات بی دریغ و والای اساتید راهنما و مشاور خود آقایان دکتر صهبت بهرامی نژاد و دکتر کیانوش چقامیرزا و موجب افتخار است که علم و دانش گرانبهاترین چیزی ست که در محضر ایشان آموختم.

از آقایان دکتر مهدی اقبال قبادی مدیریت محترم گروه اصلاح نباتات، دکتر سعید جلالی هنرمند و دکتر سعید پوردادبه خاطر قبول زحمت داوری و مطالعه دقیق این پایان نامه و رهنمودها و پیشنهادهای ارزنده شان صمیمانه قدردانی می کنم.

لازم می دانم از مقام اساتید گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه رازی که سالهای ارزنده ای را در خدمت ایشان کسب فیض کرده ام و آموخته های زیادی از ایشان دارم، تشکر و قدردانی ویژه داشته باشم.

از خانم مهندس لیلا زارعی که در انجام آزمایش های مولکولی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی با صبر و بردباری کمال همکاری را با اینجانب داشتند تشکر فراوان دارم. همچنین از دوست عزیز و همکار آزمایشگاه آقای مهندس رضا اشرفی که در انجام کارها و نگارش پایان نامه کمک های فراوانی کردند، کمال تشکر را دارم.

از دوستان و همکلاسی های گرامی مهندس سیدمحمد حسینی کشفی، مهندس سیدبهزاد حیدری، مهندس آرش فارسیانی، مهندس سیدحسین غلامیان، مهندس جواد معتقدی، مهندس طیبه قربانی، مهندس الهام احسانی و مهندس اکبر صادق که در زمان انجام این پایان نامه بارها زحمت بنده بر دوش ایشان افتاده و ایشان با بزرگواری خود قبول زحمت کردند، سپاسگزارم.

تقدیم به:

پدر و مادر فداکارم

که هیچگاه ذره‌ای از لطف و محبت خود را از من دریغ نکردند

و

برادران و خواهر مهربانم

فهرست عناوین

فصل اول مقدمه ۱
۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- اهداف تحقیق ۳
فصل دوم کلیات و بررسی منابع ۴
۲-۱- یولاف ۵
۲-۲- سطح زیر کشت یولاف در جهان و ایران ۶
۲-۳- به‌نژادی یولاف ۶
۲-۴- اهداف اصلاح یولاف ۷
۲-۵- منشاء تنوع ۷
۲-۶- اهمیت تنوع ژنتیکی ۸
۲-۷- روش های ارزیابی تنوع ژنتیکی ۸
۲-۷-۱- نشانگرها و ویژگیهای آن ۸
۲-۷-۲- نشانگرهای مورفولوژیک ۹
۲-۷-۳- نشانگرهای مولکولی ۹
۲-۸- بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای DNA ۱۳
۲-۹- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ۱۵
۲-۱۰- تجزیه همبستگی ۱۶
۲-۱۱- تجزیه علیت ۱۷
۲-۱۲- تجزیه به مولفه های اصلی ۱۸
۲- ۱۳- تجزیه به عاملها ۱۸
۲-۱۴- تجزیه تابع تشخیص ۱۹
۲- ۱۵- تجزیه خوشه ای ۱۹
۲-۱۶- تجزیه به محورهای اصلی (PCA) ۲۰
۲-۱۷- تجزیه واریانس مولکولی ۲۰
۲-۱۸- تخمین فاصله و شباهت ژنتیکی ۲۱
۲- ۱۹- آزمون مانتل ۲۱
۲- ۲۰- شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش ۲۲
فصل سوم مواد و روشها ۲۴
۳-۱- کلیات اجرای آزمایش ۲۵
۳-۲- آزمایش مزرعه‌ای ۲۵
۳-۲-۱- مشخصات طرح آزمایشی ۲۵
۳- ۲- ۲- مشخصات مزرعه و محل آزمایش و عملیات زراعی ۲۶
۳- ۲- ۳- ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۲۷
۳- ۲- ۴- صفات مورد بررسی ۲۸
۳-۳- آزمایش مولکولی ۳۳

۳-۳-۱- استخراج DNA ۳۳
۳-۳-۱- تعیین کمیت و کیفیت DNA ۳۴
۳-۳-۲- واکنش زنجیرهای پلیمراز ۳۴
۳-۳-۳- الکتروفورز فرآورده‌های تکثیر شده ۳۷
۳-۳-۵- رتبه‌بندی داده‌های حاصل از الکتروفورز ۳۸
۳-۴- تجزیه و تحلیلهای آماری ۳۹
۳- ۴- ۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها ۳۹
۳-۴- ۲- تجزیه همبستگی ۳۹
۳- ۴- ۳- تجزیه علیّت ۳۹
۳- ۴- ۴- تجزیه خوشه ای ۳۹
۳- ۴- ۵- تجزیه تابع تشخیص ۳۹
۳- ۴- ۶- تجزیه به عامل ها ۴۰
۳- ۴- ۷- تجزیه و تحلیل داده های مولکولی ۴۰
۳-۵- شاخص‌های نشانگر ۴۰
۳- ۵- ۱- درصد چندشکلی ۴۰
۳- ۵- ۲- شاخص محتوای چند شکلیPIC ۴۰
۳- ۵- ۳- شاخص نشانگرMI ۴۱
۳- ۵- ۴- شاخص EMR ۴۱
۳- ۵- ۵- قدرت تفکیکRP ۴۱
فصل چهارم نتایج ۴۲
۴-۱- آزمایش مزرعه‌ای ۴۳
۴-۱-۱- تجریه واریانس ۴۳
۴-۱-۲- مقایسه میانگین ۴۳
۴-۱-۳- تجزیه به عامل‌ها ۴۹
۴-۱-۴- تجزیه کلاستر و تجزیه تابع تشخیص ۵۲
۴-۱-۵- هبستگی پیرسون ۵۳
۴-۱-۶- تجزیه مسیر ۶۱
۴-۲- آزمایش مولکولی ۶۴
۴-۲-۱- شاخص‌های آغازگر ۶۴
۴-۲-۲- ماتریس تشابه جاکارد بر اساس داده‌های به دست آمده از نشانگر ISSR ۶۶
۴-۲-۳- تجزیه کلاستر و تجزیه واریانس مولکولی براساس داده‌های حاصل از نشانگرISSR ۶۸
۴-۲-۴- تجزیه به محورهای اصلی ۷۰
۴-۲-۵- مقایسه داده‌های مزرعه‌ای با داده‌های مولکولی ۷۱
فصل پنجم بحث ۷۸
۵-۱- آزمایش مزرعه‌ای ۷۹
۵-۲- آزمایش مولکولی ۸۵

۵-۳- مقایسه آزمایش مزرعه‌ای با مولکولی ۸۵
۵-۴ نتیجه‌گیری کلی..... ۸۷
۵-۵ پیشنهادات ۸۹
منابع ۹۱

فهرست اشکال

شکل(۳- ۱)- شرایط آب و هوایی محل آزمایش ۲۷
شکل (۴-۱)-پلات مقادیر ویژه برای هرکدام از عامل‌های حاصل از تجزیه به عامل‌ها با چرخش واریماکس .۵۰
شکل (۴-۲)ـ دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر با استفاده از صفات مزرعه‌ای با برش در ناحیه ۵ واحد فاصله ۵۴
شکل (۴-۳)ـ پلات حاصل از تابع تشخیص کانونیک برای ۴ گروه حاصل از تجزیه کلاستر ۵۵
شکل (۴-۴)_دیاگرام تجزیه مسیر برای توجیه صفات دخیل در عملکرد، اعداد قرار داده شده بر روی مسیرها با توجه به جهت فلش نشان دهنده اثر مستقیم آن صفت بر صفت دیگر است ۶۱
شکل (۴-۵)ـ عکس حاصل از الکتروفورز محصول PCR برای پرایمر UBC 808 .....۶۶
شکل (۴-۶)_دندروگرام تجزیه کلاستر برای ۴۷ ژنوتیپ مورد آزمایش با استفاده از ضریب تشابه جاکارد ...۶۹
شکل (۴-۷)_ نمودار پراکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس تجزیه به محورهای اصلی ۷۱
شکل (۴-۸)- همبستگی ماتریس‌های ضرایب تشابه نشانگر ISSR با دادههای زراعی (سمت چپ) و هیستوگرام آزمون مانتل نشانگر ISSR با دادههای زراعی (سمت راست) ۷۲

فهرست جداول

جدول ۳- ۱- موقعیت جغرافیایی مزرعه مورد آزمایش ۲۶
جدول ۳-۲- مشخصات ژنوتیپ های مورد استفاده یولاف ۲۹
ادامه جدول ۳-۲ ..... ۳۰
جدول ۳- ۳- فهرست علائم اختصاری صفات اندازه گیری شده ۳۲
جدول ۳-۴- غلظت و ترکیب مواد استفاده شده در واکنش PCR ۳۵
جدول ۳-۵- اسامی و مشخصات ۳۰ آغازگر ISSR ۳۶
جدول ۳- ۶- مراحل و مشخصات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۳۷
جدول (۴-۱)ـ سطح احتمال معنی داری اثر ژنوتیپ و تکرار در تجزیه واریانس برای صفات مورد آزمایش در ژنوتیپ‌های تکرار دار ۴۴
جدول (۴-۲)ـ میانگین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش ۴۶
جدول (۴-۳)- نتایج تجزیه به عامل‌ها به روش PC با چرخش واریماکس ۵۰
جدول (۴-۴)- سهم صفات مورد آزمایش در هر کدام از عاملها ۵۱
جدول (۴-۵)ـ نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص صفات زراعی ۵۳
جدول (۴-۶)_نتایج حاصل از همبستگی صفات مورد آزمایش ۵۷
جدول (۴-۷)_آثار مستقیم (روی قطر) و غیر مستقیم وزن هزار دانه، تعداد دانه در خوشه و تعداد پنجه بارور بر عملکرد دانه ۶۲
جدول (۴-۸)_آثار مستقیم (روی قطر) و غیر مستقیم عملکرد کاه، تعداد دانه در خوشه، تعداد پنجه بارور و ارتفاع بوته بر وزن هزار دانه ۶۲
جدول (۴-۹)_آثار مستقیم (روی قطر) و غیر مستقیم تعداد پنجه بارور، درصد سرمازدگی و شاخص تراکم خوشه بر تعداد دانه در خوشه ۶۳
جدول (۴-۱۰)_آثار مستقیم (روی قطر) و غیر مستقیم ارتفاع و تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک بر عملکرد کاه ۶۴
جدول (۴-۱۱)_همبستگی ارتفاع بوته با شاخص تراکم خوشه، همبستگی تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک با ارتفاع بوته، همبستگی شاخص مقاومت به سرما با تعداد خوشه در متر مربع و ارتفاع با تعداد خوشه در متر مربع ۶۴
جدول (۴-۱۳)_ ارزیابی عملکرد آغازگرهای مورد استفاده در ۴۷ ژنوتیپ مورد استفاده یولاف. (NP) تعداد باندهای چند شکل، (B) تعداد کل باندها، (POL%) درصد چند شکلی، (MI) شاخص نشانگر، (EMR) شاخص EMR، (RP) قدرت تفکیک، (PIC) شاخص محتوای چند شکلی ۶۵
جدول (۴-۱۴)_ماتریس تشابه جاکارد برای ۴۷ ژنوتیپ مورد آزمایش برای داده‌های حاصل از نشانگر ISSR ۶۷
جدول (۴-۱۵)- تجزیه واریانس مولکولی بر اساس نشانگر ISSR ۶۸
جدول (۴-۱۶)_تقسیم بندی گروه‌ها و ژنوتیپ‌های قرار گرفته در هر گروه بر اساس تجزیه کلاستر ۷۰
جدول (۴-۱۷)_نتایج حاصل از تجزیه به محورهای اصلی ۷۰
جدول (۴-۱۸)_نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون نشانگرهای مولکولی با صفات مورد ارزیابی در حالت بدون داده گم شده ۷۳

جدول (۴-۱۹)_نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون به روش گام‌به‌گام برای حالت بدون داده گم شده. ۷۴
جدول (۴-۲۰)_نتایج حاصل از تجزیه پیوستگی نشانگرهای مولکولی با صفات مورد ارزیابی در حالت حداکثر ۲ داده گمشده در هر نشانگر. ۷۵
جدول (۴-۲۱)_نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون به روش گام‌به‌گام برای حالت حداکثر دو داده گمشده در هر نشانگر. ۷۶
جدول (۴-۲۲)_مشخصات باندهای حاصل از PCR که وارد مدل رگرسیون شده‌اند. ۷۷

چکیده:

یولاف از مهمترین غلات دانه ریز می‌باشد که سطح زیر کشت و تولید قابل توجهی در جهان دارد. یولاف گیاهی با سازگاری بالا است و از این نظر در زراعت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. دو بخش اصلی برنامه‌های اصلاح این گیاه نظیر سایر گیاهان تنوع و انتخاب است. نشانگرهای مولکولی و صفات مورفولوژیک دو روش متداول جهت بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشند. هدف از این تحقیق مطالعه تنوع ژنتیکی از دیدگاه مولکولی و مورفولوژیکی و بررسی رابطه این دو باهم است. از این رو طرحی بصورت بلوک‌های حجیم شده (آگمنت) با سه بلوک در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ به اجرا درآمد. تعداد ۴۳ژنوتیپ (به علاوه چهار اکوتیپ بومی در بخش مولکولی) مورد بررسی قرار گرفت. در بخش زراعی، داده ها تنوع معنی‌داری را برای تمام صفات مورد ارزیابی نشان دادند. با استفاده از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌ها در چهار گروه تقسیم بندی شدند. ارقامی مانند گلایدر که زودرس بوده و شاخص برداشت مناسبی داشتند جهت کشت در شرایط دیم، ارقام علوفه‌ای دیم با عملکرد دانه پایین ولی زودرس، ارقام علوفه‌ای پابلند برای کشت علوفه‌ای در شرایط آبی و ارقام بینابین مانند رقم بروشر که از نظر تولید علوفه و دانه در سطح بالایی بودند، که بر اساس مشخصاتی که داشتند برای حالات ذکر شده پیشنهاد شدند. صفات مورد بررسی به هفت عامل‌گروه‌بندی شدند که به ترتیب عبارتند از تامین عملکرد، قامت گیاه، توان تولیدی، مورفولوژی خوشه، رقابت بین بوته‌ای، دانه بندی و رقابت درون بوته‌ای. تجزیه علیت نشان داد که عملکرد دانه یولاف به طورغیر مستقیم تحت تاثیر اندوخته‌های برگی و ساقه قرار می‌گیرد، این اندوخته‌ها (وزن کاه) نقش بسزایی در تامین وزن هزار دانه که اصلی ترین صفت در تعیین عملکرد دانه بود، نشان دادند. در بخش مولکولی تعداد ۲۰۶ باند چند شکل از ۳۴ آغازگر ISSR به دست آمد. براساس ماتریس تشابه جاکارد دامنه تشابهات بین ژنوتیپ‌ها از ۰/۶۶ الی ۰/۲۳ بود و تجزیه کلاستر بر اساس این ضرایب تشابه ژنوتیپ‌ها را به ۷ گروه تفکیک کرد. در تجزیه رگرسیون بین نشانگرها و داده‌های زارعی، نشانگرهای وارد شده در مدل برای صفاتی که باهم رابطه فیزیولوژیک داشتند، دارای تشابهات زیادی بودند. هر چند گروه بندی نشانگرهای ISSR در آزمون مانتل ارتباط معنی‌داری با نتایج حاصل از مزرعه نداشت ولی در مجموع نشانگر مناسبی جهت شناسایی و تفکیک ژنوتیپ‌ها شناخته شد. با توجه به نتایج به دست آمده و مشاهدات، یولاف با توان تولید مناسب می‌تواند جایگاه ارزشمندی در بین محصولات منطقه داشته باشد.

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

یولاف گیاهی از تیره غلات و از جنس *Avena* است. گونه زراعی آن *Avena sativa* با نام انگلیسی Oats در نقاط مختلفی از دنیا مورد کشت و کار قرار می‌گیرد (نورمحمدی، ۱۳۸۲ ؛ خدابنده، ۱۳۸۴).

یولاف از غلات مهم زراعی در دنیا است که بعد از گندم، جو، برنج و ذرت از نظر اقتصادی مقام پنجم را در بین غلات دارا می باشد و به سبب سازگاری بالا در زراعت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. دانه و علوفه یولاف دارای پروتئینی با میزان و کیفیت بالا می باشد (خدابنده، ۱۳۸۴). زراعت یولاف در ایران زیاد معمول نیست اما کشت دانه یولاف در جهان بسیار توسعه یافته است به طوریکه در کشورهایی مثل روسیه، آمریکا، کانادا و استرالیا یکی از گیاهان مهم و با ارزش زراعی به حساب می‌آید. عمده مصرف یولاف، استفاده علوفه‌ای از آن می باشد و معمولا همراه با عدس یا ماش به صورت کشت مخلوط جهت تهیه علوفه مرغوب کشت می‌گردد و همچنین دانه آن در تغذیه اسب به خاطر پیش‌ماده استروئید از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (رستگار، ۱۳۸۳؛ نورمحمدی، ۱۳۸۲). در کشورهای اروپایی از آرد یولاف استفاده‌های زیادی می‌شود، اگر آرد یولاف همراه با آرد گندم مخلوط شود نان با کیفیتی را می‌توان با آن تهیه کرد. همچنین فرآوری دانه‌ها یا آرد نیز در تهیه مواد غذایی بسیار معمول می باشد (صالحی‌فر و همکاران، ۱۳۸۵). یکی از فرآورده‌های یولاف ماده‌ای است به نام کویک[1] که بسیار گوارا و مقوی است. همچنین دانه‌های یولاف در مرحله خمیری از ماده ای با نام آونین[2] سرشار هستند که ماده‌ای انرژی زاست. یولاف برخلاف دیگر غلات سرشار از متابولیت‌های ثانویه است، از این متابولیت‌ها استفاده‌های زیادی به عمل می‌آید، به عنوان مثال فورفورال که از پوست دانه به دست می‌آید مصارف صنعتی دارد، همچنین یولاف دارای ساپونین‌های ویژه‌ای است که می‌توان در تهیه مواد ضد قارچی از آن استفاده کرد. یولاف دارای مقادیر قابل توجهی از چربی‌ها و اسیدهای چرب است و این مسئله باعث شده که در تولید مواد آرایشی و بهداشتی و برخی از داروهای گیاهی بسیار مورد توجه باشد (خدابنده، ۱۳۸۴).

یولاف نظیر سایر گیاهان احتیاج به پیشبرد برنامه‌های اصلاحی دارد. تنوع و انتخاب دو رکن اصلی برنامه‌های اصلاح نباتات هستند. تنوع ژنتیکی به معنی تفاوت موجود در توالی بازها بر روی مولکول DNA

[1] Quick
[2] Avenine

افراد می‌باشد. انتخاب خود به تنوع ژنتیکی وابسته است، به عبارتی هنگامی که تنوع نباشد انتخاب مفهومی ندارد. به منظور بهره‌برداری از تنوع در جهت انتخاب صفات برتر بایستی ژرم‌پلاسم مورد بررسی قرار گیرد (فرشادفر، ۱۳۷۴).

در دست داشتن اطلاعات دقیق از تنوع ژنتیکی یک جمعیت علاوه بر حفظ ذخایر ژنتیکی، امکان شناسایی بهتر والدین را در برنامه‌های اصلاحی فراهم می‌نماید، همچنین از تنوع ژنتیکی می‌توان در حفاظت از ژرم‌پلاسم، نقشه‌یابی، شناسنامه‌دارکردن ژرم‌پلاسم‌ها و ردگیری ژنها سود جست (ویریک[1] وهمکاران، ۱۹۹۵). تنوع ژنتیکی این امکان را فراهم می کند که توسط انتخاب و اصلاح، گیاهان جدیدی با عملکرد بالا، مقاوم به تنش‌ها و سازگار به محیط‌های جدید تولید نمود (روآ[2]، ۲۰۰۴). تنوع فنوتیپی موجود در ژنوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر دو عامل ژنتیک و محیط است. پرواضح است آن دسته از تنوع که منشاء آنها ژنتیکی می‌باشد در اصلاح نباتات با ارزش‌تر هستند (فرشادفر، ۱۳۷۴).

یکی از راه‌های بررسی تنوع ژنتیکی استفاده از نشانگرهای ژنتیکی می‌باشد. نشانگرهای ژنتیکی شامل دو گروه هستند (نقوی و همکاران، ۱۳۸۶):

۱) نشانگرهای مورفولوژیک.

۲) نشانگرهای مولکولی: که خود شامل نشانگرهای بیوشیمیایی و DNA می باشند.

نشانگرهای مورفولوژیک معمولاً متناظر با صفات کمی هستند که به صورت عینی قابل رتبه بندی می‌باشند. این نشانگرها دارای توارث غالب و مغلوب بوده و در طبیعت یافت می شوندکه از دهها سال پیش مورد استفاده قرار می‌گرفتند و هنوز هم از اهمیت بالایی برخوردار هستند. تحت تاثیر محیط بودن، کم بودن تعداد، دشواری در اندازه‌گیری و ثبت آنها، نا مشخص بودن اساس ژنتیکی برخی از آنها از مشکلات این نشانگرها می‌باشد، با این وجود نمی‌توان از نقش آنها در اصلاح نباتات و ژنتیک چشم پوشی کرد (نقوی و همکاران، ۱۳۸۶).

نشانگرهای DNA که برخی آنها را نشانگرهای مولکولی نیز می خوانند، حدود ۳۰ سال است که گسترش پیدا کرده‌اند و در حال حاضر مهمترین نشانگرها شناخته می شوند. این دسته به دلیل وسعت بسیار زیاد مولکول DNA شامل تعداد بسیار زیاد و شاید پایان ناپذیری از نشانگرها هستند (نقوی و همکاران، ۱۳۸۶). نشانگرهای DNA دارای مزایا و معایبی هستند و به دلیل استفاده از کل ژنوم موجود (نه فقط قسمتهای کد کننده ژن) از تنوع بالایی برخوردار هستند بطوری که به راحتی و فراوانی زیاد می‌توانند چند شکلی بالایی نشان دهند، از این رو برای طبقه بندی ژنوتیپ‌ها از کارایی بالایی برخوردار هستند، از طرفی سادگی و سرعت کار با آنها بسیار بالا است. از مشکلات این نشانگرها می توان به گران قیمت بودن آنها اشاره کرد (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۲).

[1] Virk
[2] Roa

ISSR ها از نشانگرهای مبتنی بر PCR با پرایمرهای تکی نیمه اختیاری هستند که این آغازگرها به منظور تکثیر قطعات در بین توالی‌های تکراری ساده طراحی شده‌اند. اندازه این آغازگرها می‌تواند از ۱۵ تا ۳۰ نوکلئوتید متغیر باشد و معمولاً از واحدهای تکراری دو تا پنج بازی تشکیل شده‌اند. طویل بودن این آغازگرها موجب اختصاصی‌تر شدن واکنش PCR می‌شود و درنتیجه تکرار پذیری این نشانگرها افزایش می‌یابد (گنزالز[1] و همکاران، ۲۰۰۵ و زهدی[2] و همکاران، ۲۰۰۴). این سیستم نشانگری روش مناسبی برای بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ها است و از نشانگرهای حاصل از آن برای بررسی تنوع ژنتیکی بسیاری از گیاهان نظیر گندم و برنج استفاده شده است، همچنین برای نقشه یابی یولاف نیز مورد استفاده قرار گرفته‌اند (پیورینه[3] و همکاران، ۲۰۰۸).

۱-۲- اهداف تحقیق

باتوجه به مطالب بالا می توان اهداف تحقیقی این پایان نامه را به صورت زیر خلاصه کرد:

۱- بررسی میزان تنوع ژنتیکی به وسیله نشانگر مولکولی ISSR در بین تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های جنس یولاف.

۲- مطالعه الگوی باندی برای هر کدام از ژنوتیپ‌ها جهت شناسایی مدلی برای تعیین ژنوتیپ در بین مواد گیاهی مورد استفاده

۳- بررسی تنوع زراعی مورفولوژیکی و رابطه آن با تنوع حاصل از نشانگرهای مولکولی ISSR.

[1] Gonzalez
[2] *Zehdi*
[3] *Pivorienė*

فصل دوم

کلیات و بررسی منابع

۲-۱- یولاف

یولاف گیاهی از تیره غلات و از جنس *Avena* است. گونه زراعی آن *Avena sativa* با نام انگلیسی Oats است که در نقاط مختلفی از دنیا مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. گونه‌های وحشی آن که به صورت علف‌هرز هستند عمدتا شامل *A. fatua* ، *A.strilis* ، *A.barbata* و غیره می‌باشند که هر دو در گروه یولاف‌های هگزاپلوئید با 2n=6x=42 کروموزوم می باشند (نورمحمدی، ۱۳۸۲ ؛ خدابنده، ۱۳۸۴).

یولاف از غلات مهم زراعی است، بصورتی که بعد از گندم، جو، برنج و ذرت مقام پنجم از نظر اقتصادی را در بین غلات دارا می باشد. یولاف گیاهی با سازگاری بالا است و از این نظر در زراعت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. دانه و علوفه یولاف دارای پروتئینی با میزان و کیفیت بالا می باشد (خدابنده، ۱۳۸۴). زراعت یولاف در ایران زیاد معمول نیست و در نواحی محدودی از شمال کشور کشت می شود. عمده مصرف یولاف، استفاده علوفه‌ای از آن به صورت سرچر می‌باشد، علوفه یولاف عالی‌ترین جیره برای تغذیه اسب و حیوانات جوان است (نورمحمدی، ۱۳۸۲).

در بسیاری از موارد یولاف استفاده دانه‌ای نیز دارد، این مصرف به صورت آرد یا فرآوری دانه‌ها می‌باشد. مصرف دانه‌ای آن که به صورت مستقیم در تولید مواد خوراکی برای انسان استفاده می‌گردد، حدود ۱۳٪ است. این گیاه در مقایسه با گیاهانی نظیر گندم و جو دارای ماده تولیدی کمتری در واحد سطح می‌باشد ولی دانه یولاف نسبت به گندم دارای ارزش تغذیه‌ای بیشتری برای انسان است، یکی از موارد مزیت تغذیه‌ای یولاف سرشار بودن آن از ماده بتاگلوکان[1] است، این ماده باعث کاهش چشمگیر کلسترول خون شده و در سلامت قلب و عروق بسیار پرکاربرد است (کالرسون[2] و کایپلر[3]، ۲۰۰۷ و بروتیگام[4] ، ۲۰۰۹). در آمریکا از دانه یولاف ماده مخصوصی به نام کویک[5] تهیه می‌کنند که بسیار گوارا و مقوی است. همچنین دانه‌های یولاف در مرحله خمیری از ماده ای با نام آونین سرشار هستند که ماده‌ای انرژی زاست. از پوست دانه آن ماده‌ای به نام فورفورال بدست می‌آید که مصرف صنعتی دارد. همچنین از یولاف در مصارف داروسازی و تهیه مواد بهداشتی استفاده می‌شود (خدابنده، ۱۳۸۴).

[1] *β-glucan*
[2] *Carlson*
[3] Kaeppler
[4] Brauthgam
[5] Quick