



دانشگاه پیام نور

واحد کرج

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.SC)

در رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی

دانشکده مهندسی کشاورزی

گروه علمی کشاورزی

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گونه *Medicago sativa* توسط

پروتئین‌های کل

اساتید راهنما:

دکتر پروین صالحی شانجانی

دکتر غلامرضا بخشی خانیکی

استاد مشاور:

دکتر علی اشرف جعفری

نگارش:

پریسا صالحی

مهر ۱۳۸۹

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

این پروژه تحقیقاتی با استفاده از امکانات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور انجام شده است.

تقدیم به دانشجویان با آرزوی موفقیت

مشکر و قدردانی

اکنون که به یاری خداوند متعال توفیق آن ریافته‌ام که تهیه و تدوین پایان نامه کارشناسی ارشد را به انجام رسانم، بر خود لازم می‌دانم که به زحمات تمامی آنانی که در این راه مرایای رسانده اند، ارج نهم.

از سرکار خانم دکتر پروین صالحی شانجانی و جناب آقای دکتر علی اشرف جعفری که در جهت آموزش به ساگردان خویش بخطه‌ای رادینخ نموده و از جناب آقای دکتر غلامرضا نجفی خانگی که کمال همکاری و همیاری را در این راه داشته‌اند سپاسگزاری می‌نمایم.

شایسته است از جناب آقای دکتر هژبریان مدیر گروه بیوتکنولوژی و جناب آقای دکتر ابراهیمی از اساتید محترم دانشگاه که همیشه دانشجویان را راهنمایی نموده‌اند و همچنین از کادر آموزشی دانشگاه پیام نور به ویژه سرکار خانم طالبی و فقی مشکر و قدردانی گردد.

چکیده:

به منظور بررسی تنوع مورفولوژیکی و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های کل ۳۹ رقم یونجه (*Medicago sativa*) در سه آزمایش جداگانه، آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در ایستگاه تحقیقات البرز کرج، اندازه‌گیری پارامترهای جوانه‌زنی بذر در آزمایشگاه و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های کل مورد ارزیابی قرار گرفتند. اندازه‌گیری صفات مرتبط با جوانه‌زنی در شرایط استاندارد انجام گرفت و برای ارزیابی ملکولی از الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های کل استفاده شد. بر اساس نتایج بدست آمده در میان ۲۷ رقم یونجه، ۴۴ باند پروتئینی مشاهده شد که وزن مولکولی متغیر از ۶۶۰۶ دالتون تا ۲۶۹۱۵۳ دالتون داشتند. بیشترین تعداد باند را دو رقم ارومیه ۳ و مسجد سلیمان (۴۲ باند) و کمترین تعداد باند را کردستان و تبریز (۳۴ باند) به خود اختصاص دادند. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) ۳۳٪ تنوع بین جمعیت‌ها و ۶۷٪ تنوع درون جمعیت‌ها را، در ارقام ایرانی-خارجی نشان داد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و تجزیه خوشه‌ای به روش Ward برای کلیه صفات در هر سه آزمایش انجام شد. در تجزیه خوشه‌ای براساس صفات زراعی، جمعیت‌ها در ۳ خوشه مجزا و در تجزیه کلاستر براساس صفات جوانه‌زنی جمعیت‌ها در ۴ خوشه قرار گرفتند. تجزیه خوشه‌ای به روش Neighbor Joining برای صفات ملکولی، جمعیت‌ها را به سه گروه تقسیم کرد. در تجزیه خوشه‌ای صفات مورفولوژیک و ملکولی جمعیت‌های کرج ۱ و خرم‌آباد هرکدام در یک خوشه جداگانه قرار گرفتند. همبستگی کلیه صفات به روش کارل - پیرسون با نرم افزار spss انجام شد. صفات جوانه‌زنی با صفات جغرافیایی و صفات زراعی با صفات ژنتیکی همبستگی بیشتری نشان دادند. در پراکنش جمعیت‌ها، بر اساس ۲ مولفه اول مطابقت خوبی بین تجزیه کلاستر و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در هر سه آزمایش وجود داشت.

واژگان کلیدی: یونجه، *Medicago sativa*، تنوع ژنتیکی، پروتئین‌های کل، صفات مورفولوژیک، جوانه‌زنی و SDS/PAGE.

فهرست عناوین

صفحه	عنوان
	فصل اول مقدمه و اهداف
۱	۱-۱ مقدمه
۲	۲-۱ اهداف
	فصل دوم بررسی منابع
۳	۱-۲ ویژگی‌های جغرافیایی و گیاهشناسی یونجه
۳	۱-۱-۲ اهمیت یونجه
۴	۲-۱-۲ تاریخچه و مبدا
۵	۳-۱-۲ سازگاری و شرایط آب و هوایی
۷	۴-۱-۲ رده‌بندی و نام‌های علمی و محلی
۸	۵-۱-۲ گونه‌های مختلف یونجه (رده‌بندی یونجه)
۹	۶-۱-۲ ارقام مختلف یونجه
۱۱	۷-۱-۲ صفات بتانیکی و خصوصیات مورفولوژیکی یونجه
۱۴	۸-۱-۲ عملکرد علوفه
۱۵	۹-۱-۲ به‌نژادی به منظور افزایش عملکرد علوفه
۱۶	۱۰-۱-۲ کیفیت علوفه
۱۶	۱۱-۱-۲ بهبود کیفیت علوفه یونجه
۱۷	۱۲-۱-۲ رابطه عملکرد و کیفیت علوفه یونجه
۱۸	۱۳-۱-۲ خودگشنی و دگرگشنی
۱۸	۱۴-۱-۲ ژنتیک یونجه
۱۸	۲-۲ الکتروفورز
۱۹	۱-۲-۲ تاریخچه استفاده از الکتروفورز
۱۹	۲-۲-۲ ساختار الکتروفورز
۲۰	۳-۲-۲ دستگاه الکتروفورز
۲۱	۴-۲-۲ اصول الکتروفورز
۲۳	۵-۲-۲ انواع الکتروفورز بر حسب نوع بستر
۲۴	۶-۲-۲ انواع الکتروفورز بر حسب نوع جداسازی پروتئین‌ها
۲۵	۷-۲-۲ ژل‌ها
۲۶	۸-۲-۲ نحوه ایجاد منافذ با اندازه‌های متفاوت
۲۷	۹-۲-۲ استخراج و جداسازی پروتئین‌ها
۲۹	۱۰-۲-۲ محلول‌های بافری

صفحه	عنوان
۳۰	۱۱-۲-۲ مکانیسم عمل تثبیت کننده
۳۰	۱۲-۲-۲ رنگ کردن ژل
۳۰	۱۳-۲-۲ انواع رنگ آمیزی
۳۲	۱۴-۲-۲ ثبت و امتیازدهی نوارها
۳۳	۱۵-۲-۲ SDS-PAGE پروتئین ها
۳۴	۱۶-۲-۲ اثر عوامل الکتریکی
۳۵	۱۷-۲-۲ اثر حرارت
۳۵	۱۸-۲-۲ معایب الکتروفورز ژل اکریلامید
۳۶	۱۹-۲-۲ امکان مشکلاتی که در حین آماده سازی و کار با ژل SDS به وجود آید
۳۷	۳-۲ سابقه مطالعات مورفولوژیکی و ژنتیکی
۳۷	۱-۳-۲ بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگرهای مورفولوژیکی و شیمیایی
۴۲	۲-۳-۲ بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگرهای مولکولی
	فصل سوم مواد و روش ها
۴۶	۱-۳ مشخصات اقلیمی و زراعی منطقه اجرای طرح
۴۶	۲-۳ ژنوتیپ های مورد بررسی
۴۹	۳-۳ صفات مورفولوژیکی مورد بررسی و نحوه اندازه گیری
۴۹	۴-۳ آزمایش ژرمیناتور
۵۰	۵-۳ روش مطالعه پروتئین های کل
۵۰	۱-۵-۳ محلول های عصاره گیری
۵۱	۲-۵-۳ نحوه عصاره گیری
۵۲	۳-۵-۳ محلول های الکتروفورز
۵۳	۴-۵-۳ ژل پلی اکریل آمید
۵۵	۵-۵-۳ تعیین وزن مولکولی باندهای پروتئینی
۵۵	۶-۵-۳ تعیین حرکت نسبی (RM) باندهای پروتئینی
۵۵	۶-۳ روش های آماری
۵۵	۱-۶-۳ روش های آماری در مطالعات مورفولوژی و جوانه زنی
۵۵	۲-۶-۳ روش های آماری در مطالعات پروتئین های کل
۵۶	۷-۳ آماره های بکار برده شده
۵۶	۱-۷-۳ تجزیه علیت
۵۷	۲-۷-۳ روش های آماری چند متغیره
۵۹	۳-۷-۳ تجزیه خوشه ای

صفحه	عنوان
۶۰	۳-۷-۴ تجزیه به مؤلفه‌های اصلی
۶۰	۳-۷-۵ سرعت جوانه‌زنی
۶۱	۳-۷-۶ تنوع و تمایز ژنتیکی
	فصل چهارم نتایج
۶۳	۴-۱ بررسی تنوع ژنتیکی ارقام یونجه بر اساس صفات مورفولوژیکی
۶۳	۴-۱-۱ تجزیه واریانس
۶۳	۴-۱-۲ آزمون دانکن
۷۱	۴-۱-۳ تجزیه همبستگی
۷۴	۴-۱-۴ تجزیه به مؤلفه‌های اصلی
۷۵	۴-۱-۵ تجزیه کلاستر
۸۱	۴-۲ بررسی تنوع ژنتیکی ارقام ایرانی و خارجی یونجه بر اساس مارکر پروتئین‌های کل
۸۱	۴-۲-۱ تعیین درصد حرکت نسبی و وزن مولکولی باندهای پروتئین
۸۱	۴-۲-۲ ارزیابی کیفی ژل‌های پلی‌اکریل‌آمید ۲۷ رقم یونجه
۹۰	۴-۲-۳ پلی‌مورفیسم
۹۰	۴-۲-۴ الگوی تنوع
۹۰	۴-۲-۵ الگوی تمایز
۱۰۱	۴-۲-۶ تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)
۱۰۲	۴-۲-۷ همبستگی بین فاصله‌های مورفولوژیکی و ژنتیکی در ارقام ایرانی و ایرانی - خارجی
۱۰۶	۴-۲-۸ همبستگی بین فاصله‌های مورفولوژیکی و ژنتیکی با صفات جغرافیایی
۱۰۸	۴-۲-۹ تجزیه همبستگی کلیه صفات در ارقام ایرانی - خارجی و ایرانی
	فصل پنجم بحث
۱۱۶	۵-۱ مقایسه تنوع ژنتیکی صفات مورفولوژیکی
۱۱۸	۵-۲ مقایسه تنوع ژنتیکی بر اساس مارکرهای مولکولی (SDS-PAGE)
۱۲۰	۵-۳ مقایسه همبستگی صفات مورفولوژیکی، ژنتیکی و جغرافیایی
۱۲۳	پیشنهادات
۱۲۴	منابع

۱-۱ مقدمه

یونجه (*Medicago sativa* L.) از جمله نباتات علوفه‌ای بومی ایران است که در شرایط متنوع آب و هوایی رویش دارد و در مراتع طبیعی به چشم می‌خورد. در هر منطقه از کشور ایران با نام و رقم معینی کشت و کار می‌گردد. این گیاه با ارزش قادر است با گسترش ریشه‌های خود به خوبی در برابر خشکی مقاومت نماید و در خاک‌های فقیر از نظر نیتروژن هوا تولید داشته باشد. همچنین یونجه در برابر سرما و گرما مقاومت کرده و با شرایط گوناگون سازگاری پیدا می‌کند.

در کشور ما صنعت دامپروری و دامداری به شیوه مدرن و مکانیزه در سال‌های اخیر در حال توسعه و پیشرفت است. با توجه به افزایش جمعیت و تقاضای روزافزون بازار، جهت تأمین فرآورده‌های دامی، لزوم شناسایی عوامل مؤثر در افزایش کمی و کیفی پروتئین‌های حیوانی محسوس است. کمبود علوفه باعث فشار بیش از حد بر مراتع و پایین آمدن تولیدات دامی می‌گردد. کمبود فعلی گوشت نیز ناشی از همین مسأله است که پیامد آن تخریب مراتع می‌باشد. بدیهی است که واردات گوشت و علوفه در حجم زیاد راه حل اساسی نمی‌باشد. بلکه تولید خوراک دام در داخل کشور اساسی‌ترین حرکت در این راستا است (شاه نجات بوشهری، ۱۳۶۷).

در دهه‌های اخیر پیشرفت‌های چشمگیری در افزایش تولید گیاهان زراعی رخ داده است. محققان نیمی از این پیشرفت‌ها را مرهون اصلاحات ژنتیکی و نیم دیگر را به تکنولوژی زراعت ربط داده‌اند. آنها معتقدند که معمولاً پیشرفت‌های ژنتیکی در سطوح عملکرد بالا و پیشرفت‌های تکنولوژیکی در سطوح عملکرد پایین از اهمیت بیشتری برخوردارند (Smith, 1997). برنامه‌های به‌نژادی با افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی نقش بسزایی در تأمین مواد غذایی ایفا نموده است. اساس تحقیقات به‌نژادی گیاهان بر پایه تنوع ژنتیکی وسیع استوار است. در واقع بدون دسترسی به چنین تنوعی اصلاح‌گر شانس موفقیت چندانی برای ایجاد و ارائه ارقام اصلاح شده جدید نخواهد داشت. منابع ژنتیکی گیاهان علاوه بر نقش زیربنایی برای تولید ارقام جدید، به عنوان سازگاری ژنتیکی در برابر تغییرات محیطی حائز اهمیت می‌باشند (عبدمیشانی و شاه نجات بوشهری، ۱۳۶۷). از طرفی زیربنای هر برنامه اصلاحی از طریق پارامترهای ژنتیکی پی‌ریزی می‌گردد. بنابراین آگاهی از ماهیت ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و اطلاع از نحوه عمل ژن‌های مربوطه برای برنامه ریزی‌های به‌نژادی ضروری است (Fehr, 1987). قبل از اجرای یک برنامه دراز مدت اصلاحی به طور معمول مطالعات ژنتیکی صورت می‌گیرد. اطلاعاتی در مورد مقدار و ماهیت تنوع ژنتیکی و همبستگی بین صفات لازم است تا یک برنامه مؤثر اصلاحی نظیر گزینش یا تلاقی برای اصلاح یک رقم اجرا گردد. طبقه‌بندی

ژرم پلاسم گیاهی براساس صفات مهم زراعی برای تولید ارقام جدید ضروری است. زیرا در تولید ارقام جدید، برای اهداف مشخص، باید از جمعیت‌های واجد شرایط برای آن صفات استفاده کرد. برای بررسی تنوع ژنتیکی از نشانگرهای متفاوتی استفاده می‌شود که عبارتند از:

- نشانگرهای مورفولوژیکی مثل ارتفاع گیاه، تعداد پنجه، محیط طوقه و ...
- نشانگرهای سیتوژنتیک مولکولی و ...
- نشانگرهای بیوشیمیایی مثل ایزوآنزیم، باندهای پروتئینی و ...
- نشانگرهای مولکولی مانند RAPD, RFLP و ...

۱-۲ اهداف

یکی از اولین نیازهای مطالعاتی در اصلاح ژنتیکی گونه، داشتن اطلاعات لازم در خصوص سطح پلوئیدی، ویژگی‌های کروموزومی و رفتارهای کروموزومی و تنوع ژنتیکی در گونه‌ها و توده‌های مختلف آن می‌باشد. از قبیل اینکه توده‌های مختلف از یک گونه در نقاط مختلف کشور دارای چه نوع خویشاوندانی هستند؟ اینکه این ویژگی‌های وراثتی با صفات مورفولوژیکی و شرایط محیطی دارای چه ارتباطی هستند؟ و از این ویژگی‌ها به چه نحو می‌توان در اصلاح ژنتیکی گونه‌ها بهره جست؟

اهداف اجرای این طرح را می‌توان در موارد زیر خلاصه نمود:

- بررسی جمعیت‌های مختلف یونجه (*Medicago sativa L.*) از لحاظ صفات مورفولوژیکی و پروتئین‌های کل
- بررسی همبستگی بین فاصله‌های ویژگی‌های مورفولوژیکی و ژنتیکی و فاصله‌های جغرافیایی جمعیت‌های مختلف

۱-۲ ویژگی‌های جغرافیایی و گیاهشناسی یونجه

۱-۱-۲ اهمیت یونجه

یونجه (*Medicago sativa L.*) با سه هزار سال سابقه کشت اولین گیاه علوفه‌ای اهلی شناخته شده است (اهدایی، ۱۳۷۴) که به خاطر توانایی قابل ملاحظه در تولید عملکرد بالا، خوشخوراکی، مغذی بودن و همچنین دامنه وسیع سازگاری به شرایط دشوار محیطی ملکه گیاهان علوفه‌ای لقب گرفته است (شاه نجات بوشهری، ۱۳۶۷). درصد پروتئین زیاد و همچنین برخورداری از مواد معدنی قابل توجه از قبیل کلسیم، فسفر، منیزیم و دارا بودن انواع ویتامین‌ها به خصوص ویتامین A، علوفه آن یکی از مناسب‌ترین اجزاء تشکیل دهنده در جیره غذایی دائم به شمار می‌رود به طوری که منجر به افزایش قابل توجهی در تولیدات دامی می‌گردد (Vankeuren, 1972; Barends, 1977). براساس گزارشات سیسیلیانی و همکاران ۱۹۹۷ از بذر یونجه گونه *M. scutellata* و با استفاده از روش‌های مختلف کروماتوگرافی، پروتئینی استخراج و خالص گردید که می‌تواند به عنوان حشره کش علیه تعدادی از آفات نباتی مورد استفاده قرار گیرد (میرزایی ندوشن، ۱۳۷۹؛ Ceciliani, 1997). یونجه از مهمترین گیاهانی است که جهت تولید عسل در آمریکا کشت می‌گردد. تحقیقات جهت انتخاب گیاهانی با تولید شیره بیشتر موفقیت آمیز بوده است. بنابراین تحقیقات در جهت افزایش شیره باعث افزایش تولید دانه و همچنین افزایش تولید عسل نیز می‌باشد (Barends, 1977). ارزش یونجه صرفاً در ارزش غذایی آن نبوده بلکه با جلوگیری از فرسایش خاک و هدر نرفتن آب و افزایش مقادیر زیادی ازت به خاک رل مهمی را در حفظ و تقویت خاک‌های زراعی بازی می‌کند (میرحسینی ده آبادی، ۱۳۷۳؛ شاه نجات بوشهری، ۱۳۶۷).

در بعضی از کشورهای پیشرفته لگوم‌های مرتعی جزء لاینفک سیاست‌های زراعی هستند تا از منابع آب و خاک حفاظت کنند (Frye, 1988). به خصوص در کشت مخلوط با گیاهان دانه ریز به دلیل توانایی لگوم‌ها در تثبیت ازت خاک و حاصلخیز کردن آن با داشتن نسبت پایین کربن به ازت این گونه‌ها مورد توجه هستند (Chatteron. 1996; Brulsema, 1987; Biederbeck, 1994).

از ویژگی‌های مهم یونجه، عمر طولانی بین ۴ تا ۲۰ سال است ولی به دلیل افت تدریجی عملکرد آن، مزارع یونجه را معمولاً بعد از ۵ سال تجدید کشت می‌کنند. به تجربه معلوم گردید که یکی از پرسودترین محصولات زراعی، یونجه است. زیرا در بهار زودتر از نباتات دیگر رشد می‌کند و در مقابله با شرایط نامساعد محیطی مقاومت می‌کند. از یونجه در هر سال حداقل ۴ تا ۵ چین علوفه

برداشت می‌شود. یونجه ۱۳ سال بدون تجدید کشت می‌تواند دوام داشته باشد (کریمی، ۱۳۶۹). در بعضی از نقاط ایران تعداد چین‌ها ممکن در طول سال از ۱۰ تا ۱۵ چین با عملکرد ۶ تا ۳۰ تن در هکتار علوفه تازه برای هر چین گزارش شده است. این تعداد چین با مراعات کاشت صحیح و مصرف کود مناسب و زمان برداشت کاملاً امکان‌پذیر است. توأم با افزایش تعداد چین‌ها، میزان کل محصول سالانه نیز در هکتار افزایش خواهد یافت (درویشی زیدآبادی، ۱۳۷۷؛ کریمی، ۱۳۶۹).

۲-۱-۲ تاریخچه و مبدا

تاریخچه یونجه، سرگذشت مهمترین گیاه علوفه‌ای دنیا و اولین گیاه علوفه اهلی شده، می‌باشد. بشر اولیه یونجه را به درستی به عنوان یک گیاه با ارزش از لحاظ تغذیه دام تشخیص داده است. از دیدگاه تکاملی توجه به کشت یونجه به طرز چشمگیری با موفقیت همراه بوده است. احتمالاً موفقیت اصلی این گیاه را می‌توان در داشتن سیستم ریشه آن دانست. در نتیجه تکامل رابطه همزیستی بین ریشه گیاه یونجه و نژاد باکتری ریزوبیوم^۱ گیاه یونجه به یک منبع ازت دسترسی می‌یابد که بعد از کشت چند هفته، این گیاه دیگر به ازت خاک احتیاج نخواهد داشت. به علاوه یونجه به دلیل داشتن ریشه عمیق و راست، توانایی کسب رطوبت قابل جذب را از اعماق زمین دارد. این ویژگی، امکان نجات گیاه را از خطر خشکی طولانی فراهم می‌سازد (کوچکی، ۱۳۶۶). ساقه‌های خرنده روی زمین یا استولون^۲، ریشه‌های خرنده زیرزمینی یا ریزوم^۳ و طوقه به خاک نشسته یونجه، مقاومت این گیاه را در مقابل سرمای سخت زمستان و یخبندان افزایش می‌دهد و ادامه حیات یونجه را در برابر عوامل فوق تضمین می‌کند. همچنین در مناطقی که میزان بارندگی سالیانه آن بیش از ۳۰۰ میلی‌متر باشد ریشه مناسبی دارد (کوچکی، ۱۳۶۶).

مبدأ اصلی یونجه را خاور نزدیک و آسیای مرکزی می‌دانند، بنابر نظر واویلف^۴ دانشمند روسی، مبدأ یونجه مرکز خاور نزدیک، آسیای صغیر، قفقاز، ایران و مناطق کوهستان روسیه است. مرکز جغرافیایی یونجه و جو را غالباً کشور ایران می‌دانند (کوچکی، ۱۳۷۲، ۱۳۶۶). هم‌اکنون نیز به طور وحشی از چین تا اسپانیا و از سوئد تا آفریقای شمالی رشد می‌یابد، در ایران تاریخ کشت یونجه به دوران مادها و هخامنشی‌ها می‌رسد. این علوفه در موقع حمله خشایار شاه (۴۹۰ سال قبل از میلاد) از ایران به یونان برده شد و از آنجا به ایتالیا و بالاخره به سایر کشورهای اروپایی منتقل گردید (کوچکی،

^۱ - Rhizobium
^۲ - Stolon
^۳ - Rhizum
^۴ - Vavilov

۱۳۶۶). یونجه در دوره سلسله مادها جزو علوفه اسب محسوب می‌شد و به همین جهت، ریشه گیاه شناسی آن Herbamedia است که به معنی علف مادها می‌باشد (کوچکی، ۱۳۷۲ و ۱۳۷۶). یونجه از لحاظ مبدأ دارای دو مرکز است (کوچکی، ۱۳۶۶ و ۱۳۷۶). نخستین مرکز یونجه ناحیه کوهستانی قفقاز است که ارقام جدید یونجه‌های اروپایی از آنجا به دست آمده است دلیل این نظریه شباهت یونجه‌های تیپ وحشی موجود در قفقاز و ارقام یونجه‌های کشت شده در آفریقای شمالی می‌باشد. دومین مرکز مستقل یونجه در آسیای مرکزی است. به این دلیل که رفتار یونجه‌های مرکزی نسبت به شرایط بخش مرکزی اروپایی شوروی سابق، نشان می‌دهد که مبدأ نژادی آنها با مبدأ یونجه‌های آسیایی پیشین (قفقاز) متفاوت است (کوچکی، ۱۳۶۶).

۲-۱-۳ سازگاری و شرایط آب و هوایی

امروزه کشت یونجه در اکثر مناطق دنیا و کشور ما رواج کامل دارد. عوامل و مؤلفه‌های متعددی مانند خاک، دما، سرما، آب و نور در رشد و نمو یونجه و میزان عملکرد ارقام مؤثر است. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک از عوامل اکولوژیکی مهم و مؤثر بر سطح زیر کشت یونجه می‌باشند. خصوصیات مکانیکی و شیمیایی خاک سطح الارضی از اهمیت بیشتری برخوردارند. یونجه در خاک‌های عمیق با زه‌کشی خوب، حاصلخیز و خشتی تا کمی قلیایی بهترین رشد را دارد (کوچکی، ۱۳۶۹). با این وجود خاک‌های لومی رسی، لومی شنی، بهترین خاک برای رشد یونجه هستند (Bolton, 1931). یونجه به شدت نسبت به خاک‌های اسیدی حساس است (کوچکی، ۱۳۶۹). این گیاه در مرحله جوانه‌زنی به شوری خاک حساس است ولی بعد از استقرار و ریشه دوانی، سازش قابل ملاحظه‌ای به شوری دارند. با این حال، نصرتی در سال ۱۳۸۱ به نقل از مطلبی اعلام نمود که با افزایش شوری افت شدید عملکرد مشاهده می‌شود. به نحوی که در شوری ۸/۸ میلی موس، از مقدار عملکرد تا ۵۰ درصد کاسته می‌شود.

یونجه در مقابل تغییرات دمای محیط حساسیت کمتری نشان می‌دهد. براساس تحقیقات صورت گرفته ثابت شده است که این گیاه قادر است تغییرات دمایی از ۶۰ درجه سانتیگراد زیر صفر یا ۵۰ درجه سانتیگراد بالای صفر را بدون صدمه دیدن تحمل کند (کریمی، ۱۳۶۹). از همین لحاظ می‌توان یونجه را به سه نوع حساس، نیمه مقاوم و مقاوم به سرما تقسیم کرد. ارقام حساس به سرما فاقد خواب زمستانه بوده و بعد از برداشت رشد سریعی دارند. نیمه مقاوم به سرما، دمای پایین را تا حدودی تحمل می‌کنند و دارای خواب پاییزه یا زمستانه می‌باشند. اما ارقام مقاوم به سرما دارای رکود در ابتدای پاییز و زمستان هستند (مجیدی، ۱۳۷۳). صفر فیزیولوژی یونجه به هنگام جوانه‌زنی بین

۳-۱ درجه سانتیگراد و در زمان رشد مجدد ۵ درجه سانتیگراد است (Hanson, 1988). دمای مناسب جوانه‌زنی بین ۱۵ تا ۱۶ درجه سانتیگراد می‌باشد. جوانه‌زنی یونجه در دمای کمتر از ۸ و بیشتر از ۳۰ درجه سانتیگراد بسیار کند است. در مرحله گلدهی افزایش دما از ۲۷ تا ۳۲ درجه باعث تسریع فرایند می‌شود. در این مرحله چنانچه دمای محیط بین ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتیگراد در روز و ۱۶ تا ۱۸ درجه سانتیگراد در شب باشد تولید بذر مناسب‌تر خواهد بود (نصرتی، ۱۳۸۱).

رشد برگ‌ها در حرارت‌های کمتر از ۵ درجه سانتیگراد متوقف می‌گردد (Hanson, 1988). در مناطق کوهستانی و سردسیر، یونجه در هر سال ۴-۲ چین تولید می‌کند. در صورتی که در جلگه خوزستان، به خوبی بیش از ۱۰ چین یونجه در سال برداشت می‌شود. یونجه برای رشد خود احتیاج به آب فراوان دارد. سطح زیر کشت یونجه در جهان ۳۲ میلیون هکتار می‌باشد و آمریکا با بیش از ده میلیون هکتار بیشترین سطح زیر کشت یونجه را دارد. یونجه گیاهی است که بهترین رشد و نمو را در مناطقی از کشور خواهد داشت که هوای آن مناطق، خشک، آفتابی، گرم و در آنجا آب نسبتاً زیادی در دسترس باشد. این شرایط در اکثر نقاط کشور وجود دارد (کوچکی، ۱۳۶۶). بهترین شرایط رشد و نمو مطلوب یونجه را در کشور، می‌توان در جلگه خوزستان، دشت مغان، منطقه جیرفت و در مناطقی مانند آنها یافت (کوچکی، ۱۳۷۲). به طور کلی، در کشور ایران سه منطقه آب و هوایی را می‌توان برای رشد و نمو یونجه در نظر گرفت که عبارتند از مناطق خشک، نیمه خشک و مرطوب است. مستعدترین مناطق برای کشت و کار یونجه، در صورت وجود آب کافی، مناطق خشک و پس از آن مناطق نیمه خشک و در آخر، مناطق مرطوب است (یزدی صمدی، ۱۳۷۳).

کشت یونجه در ارتفاعات مختلف نیز مقدور است. به طوری که از ارتفاع ۲۴۶۵ متری اَبعلی و بعضی مناطق کم ارتفاع مانند آبادان (۱۳ متر) و اهواز (۱۸ متر) و حتی مناطق پایین‌تر از سطح دریا، مانند رشت کشت و کار یونجه رواج دارد (کوچکی، ۱۳۶۶). اما عمق خاک سطح الارض و تحت الارض و ارتفاع سفره آب زیرزمینی عوامل محدودکننده افزایش سطح زیر کشت یونجه در مناطق مرتفع می‌باشد (میرحسینی، ۱۳۷۴). واریته و ارقام یونجه در مناطق خشک و نیمه خشک کشت می‌شوند متعلق به دو گروه می‌باشند. یکی گروهی که در مناطق سرد به وجود آمده و در درجه حرارت‌های سرد به حالت رکود می‌روند و دیگری، آنهایی که به زمستان‌های معتدل سازگاری داشته و در طول سال رشد می‌نمایند (گزانچیان، ۱۳۷۲).

۲-۱-۴ رده‌بندی و نام‌های علمی و محلی

یونجه از تیره لگومینوز^۱ و زیر تیره پروانه آسا^۲ و از جنس مدیکاگو^۳ می‌باشد. گیاهشناسان قدیم، یونجه را با نام معمولی مدیکا می‌شناختند. پس از اینکه گیاهان مشابه خویشاوند آن شناخته شدند همان نام را به اضافه واژه‌های دیگر، توصیف کننده و مشخص کننده لاتینی، به آن دادند. تورنفورت^۴ گیاهشناس فرانسوی در سال ۱۷۰۰، یونجه و فرم‌های مربوط به آن را تحت اسم «مدیکا» نامگذاری کرد. همچنین گیاه بومی دیگری از جنوب اروپا خیلی شباهت به یونجه داشت را نیز به همین نام تشریح کرد. اما بعداً مشخص شد که آن، گونه دیگری به نام تریگونلا رادیاتا^۵ می‌باشد (به نقل از کوچکی، ۱۳۶۶).

شارل لینه^۶ دانشمند سوئدی نیز نام مدیکا را برای یونجه و انواع مربوط به آن انتخاب کرد. لینه به این ترتیب، یونجه معمولی را مدیکاگو ساتیوا و گونه‌های جنس مدیکاگو را که به وسیله تورنفورت شرح داده شد تحت یونجه گونه مدیکاگو رادیاتا^۷ نامگذاری نمود. بواسیه^۸ در سال ۱۸۷۲ یونجه مدیکاگو رادیاتا را تحت اسمی جدید، به نام گیاه تریگونلا رادیاتا توصیف کرد. از آن تاریخ این تیپ گیاه را به طور متفاوتی به نام‌های شنبلیله گونه تریگونلا رادیاتا و یونجه گونه مدیکاگو رادیاتا می‌شناختند (کوچکی، ۱۳۶۶). پژوهشگران در ترسیم مرز بین جنس مدیکاگو و جنس‌های دیگر به ویژه تریگونلا اختلاف نظر دارند. نتیجتاً گونه‌هایی که از لحاظ ریخت شناسی در حد واسط قرار دارند یکی از دو جنس نامبرده منظور شده‌اند (عموی، ۱۳۷۲). اسامی محلی که در سرتاسر تاریخ طولانی یونجه به این گیاه داده شده است اشاره بر گستردگی آن دارد. برای مثال در جمله ذیل که توسط هندری^۹ برای معرفی یونجه به یونانی‌ها عنوان شده است دیده می‌شود: «در نتیجه شکست خشایار شاه در سال ۴۷۹ قبل از میلاد در عقب نشینی ارتش ماد از خاک یونان، یونانی‌ها برای اولین بار بقایای یونجه زارهایی که ایرانیان در پشت سنگ‌هایشان جهت تغذیه اسب‌ها و سایر حیوانات اهلی کاشته بودند مشاهده کردند و این گیاه را به مناسبت اینکه به مادها تعلق داشت مدیک^{۱۰} نامیدند. این واژه سپس در ادبیات

^۱ -Legominoze

^۲ -Papilionacea

^۳ -Medicago

^۴ -Tournfort

^۵ -Trigonella radiata

^۶ -Corlus Linnaeus

^۷ - M.radiata

^۸ -Edmend Boissia

^۹ -Hendry

^{۱۰} -Medic

لاتین به مدیکا و در مجموعه لغات در اصطلاحات علمی گیاهشناسی به مدیکاگو تبدیل و بکار برده شده است». به این ترتیب علف مادها به اروپا وارد و معرفی شد حتی امروزه در ایتالیا یونجه به اربامدیا^۱ معروف است. بعضی از واژه‌های یونجه در کشورهای اروپایی را به این ترتیب می‌توان نام برد: Alfalfa, Common Alfalfa, Median Herb, Lucerne, Luzern,..... مرحوم دهنخدا در لغتنامه مشهور خود، یونجه را گیاهی سبز معرفی می‌نماید که تخم آن را می‌کارند و برای تعلیف اغنام و احشام به کار می‌رود. در فرهنگ رشیدی نیز از یونجه با نام یونجه یاد شده و گفته شده که گیاهی است که اسبان را فربه می‌نماید (کوچکی، ۱۳۶۶ و ۱۳۷۳).

۲-۱-۵ گونه‌های مختلف یونجه (رده‌بندی یونجه)

جنس مدیکاگو شامل ۱۱۰ گونه است که تعداد محدودی از آنها به عنوان گیاه علوفه‌ای کشت می‌شود و یا در مطالعات انجام به‌نژادی مورد استفاده قرار می‌گیرند (عمویی، ۱۳۷۲؛ کوچکی، ۱۳۶۶ و ۱۳۷۲). از بین ۱۱۰ گونه یونجه می‌توان گونه مدیکاگو ساتیوا را مثال زد که امروزه زراعت آن در بیشتر نقاط کشور معمول و به ندرت فرم وحشی آن در دسترس است. از گونه‌های دیگر می‌توان مدیکاگو مدیا^۲ و مدیکاگو فالکاتا^۳ را نام برد. مبدأ این گونه‌ها شمال قفقاز، ایران، افغانستان و بلوچستان است و کشت و کار آنها، بیشتر در مناطق ساحلی دریای مدیترانه، جنوب آمریکا و آمریکای مرکزی است. تصور می‌شود یونجه دورگ با نام مدیکاگو مدیا نتیجه دورگ‌گیری طبیعی بین یونجه معمولی و یونجه داسی (مدیکاگو فالکاتا) باشد. سه گونه نامبرده یعنی یونجه‌های معمولی دورگ و داسی را می‌توان به خوبی با یکدیگر تلاقی داد. از آنجا که سه گونه فوق خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی متفاوتی دارند، از این رو نمی‌توان آنها را به عنوان مثال زیرگونه‌ای از مدیکاگو ساتیوا به حساب آورد. در زیر به خصوصیات این سه گونه مختصراً اشاره می‌شود.

M. sativa گل‌های خوشه‌ای به رنگ بنفش مایل به آبی دارد و رشد و نمو آن راست، مستقیم و قوی و برگ‌های آن دارای شکل و یا فرم مختلفی است. پیدایش گونه یونجه معمولی که ممکن است پیدایش از گونه مدیکاگو همی‌سیکلا^۴ باشد، از دو شاخه مختلف تشکیل شده است. یکی از شاخه‌ها از فرم آسیایی مدیکاگو همی‌سیکلا بوده که تبدیل به فرم وحشی آسیایی مدیکاگو ساتیوا شده است و

^۱-Median herb

^۲-*Medicago media*

^۳-*M.falcata*

^۴-*M.hemicycla*

دیگری از فرم قفقازی مدیکاگو همی سیکلا بوده که تبدیل به تیپ پراساتیوا^۱ شده است (کوچکی، ۱۳۶۶).

M. falcata دارای گل‌هایی به رنگ زرد یا زرد طلایی است. میوه این گونه یونجه، داسی شکل است که پس از رسیدن می‌ترکد و بذرها آزاد می‌شود. برگ‌های این یونجه باریک و رشد و نمو بوت‌ه کم بوده و فرم خوابیده دارد. رنگ زرد گل، تابع چندین ژن است که یکی دارای اثرهای کیفی (در اثر ژن اصلی) و دیگری دارای اثرهای کمی (بر اثر ژن فرعی) است. برخی مبدأ این یونجه را مناطق جنوب شرقی روسیه و غرب سیبری می‌دانند. در کرانه دریای خزر، بسیاری از مناطق ایران (کوه‌های سهند، البرز، اصفهان و ...) و افغانستان دیده می‌شود. فرم‌های تتراپلوئید گونه مدیکاگو فالکاتا از گونه مدیکاگو گلوئینوزا^۲ به وجود آمده‌اند. تا بحال تعداد ۹ اکوتیپ از این گونه یونجه مشخص شده‌است (کوچکی، ۱۳۶۶، ۱۳۷۲).

M. media از لحاظ رنگ گل، رشد و نمو و میوه، حد فاصل بین دو گونه یونجه معمولی و یونجه داسی است. رنگ گل این یونجه از بنفش تا زرد با رنگ‌های حدواسط مانند سبز مایل به آبی دیده می‌شود و حتی ظهور رنگ سفید هم امکان دارد. این یونجه به علت گرده افشانی طبیعی که داشته است توانسته از تلقیح بین یونجه معمولی و داسی بدست آید (کوچکی، ۱۳۶۷، ۱۳۷۲).

۲-۱-۶ ارقام مختلف یونجه

تا هشتاد سال پیش رقم یونجه بخصوصی در بین زارعین دنیا شناخته نشده بود کشت این گیاه در مناطق مختلف دنیا و شرایط متفاوت، سبب شده است که ارقام متعدد سازگار یافته برای هر منطقه تشخیص داده شود و انجام برنامه‌های مختلف اصلاحی بر روی ارقام مختلف سبب شده که ارقام متعددی از آن امروزه در مناطق مختلف دنیا کشت شوند. با توجه به اینکه مبدأ یونجه ایران می‌باشد انتظار می‌رود ارقام بومی مناسب به وجود آمده باشند که از آنها به عنوان ارقام خارجی یاد شده‌اند. بنابراین ارقام مختلف یونجه در دو قسمت یونجه‌های ایرانی و یونجه‌های خارجی قابل بررسی هستند (کوچکی، ۱۳۶۶، ۱۳۷۲). با توجه به اهمیت یونجه‌های ایرانی نسبت به یونجه‌های خارجی، در این بخش به معرفی انواع یونجه‌های ایرانی پرداخته می‌شود. در ایران پنج نوع یونجه معروف با عملکرد منطقه‌ای مناسب رایج بوده و هرکدام به نام ناحیه‌ای که در آن کشت می‌شود نامگذاری گردیده است (یزدی صمدی، ۱۳۷۳؛ کوچکی، ۱۳۶۶، ۱۳۷۲).

^۱ -Praesativa

^۲ - *M. glutinosa*

- **قره یونجه:** مرکز این یونجه منطقه آذربایجان ایران می‌باشد. امروزه در منطقه وسیعی از آذربایجان و قسمت‌هایی از ترکیه و آذربایجان شوروی سابق کشت می‌شود چون در مناطق کوهستانی به راحتی قابل کشت بوده و محصول خوبی را تولید می‌کند. قبلاً این گونه را به عنوان یونجه دیم طبقه‌بندی می‌کردند اما امروزه به عنوان یونجه آبی در شمال غرب ایران کشت می‌شود. به طور کلی در مناطقی که ۳۰۰ میلی‌متر نزولات آسمانی داشته باشند می‌توان این یونجه را کشت کرد. مقاومت در برابر سرما و خشکی زیاد بوده و برای آذربایجان بسیار مناسب است. ارتفاع بوته‌های این یونجه به ۷۰-۸۰ سانتیمتر می‌رسد و دارای بوته‌های خشبی با برگ‌های ریز می‌باشد. در سال حدود ۳-۴ چین می‌دهد و مقدار علوفه خشک در شرایط خوب و مناسب ۸-۶ تن است.

- **یونجه همدانی:** برتری این نوع به سایر یونجه‌های ایرانی مقاومت زیاد آن نسبت به زمستان و مناطق سرد است. کشت این یونجه در ارتفاعات زیاد در حوالی همدان و کردستان که از مناطق سردسیر کشور می‌باشند توسعه زیادی دارد. ارتفاع بوته به طور متوسط ۸۵ سانتیمتر است. این رقم دارای رشد کند بوده و حداکثر در سال بیش از ۳-۴ چین نمی‌دهد. حداکثر عملکرد، در زمان ظاهر شدن گل‌ها (تقریباً دو سوم گل‌ها) خواهد بود. یونجه همدانی نام‌های محلی دیگری نیز دارد که بر حسب منطقه مورد کشت به آن نسبت داده شده‌است. مانند: مهاجرانی، خورنده و خود رقم همدانی، که در منطقه به این نام‌ها شناخته می‌شود و در بین آنها اکوتیپ‌های جالب از جهات مختلف می‌توان انتخاب کرد.

- **یونجه یزدی:** این رقم به علت خوبی جنس و زیادی عملکرد مورد توجه است. این یونجه مخصوص نواحی معتدل بدون زمستان‌های سخت می‌باشد. البته این گونه برای بعضی مناطق نسبتاً گرم و خشک ایران نیز قابل توصیه می‌باشد. این رقم نسبت به یونجه همدانی و قره یونجه کوتاه‌تر و ارتفاع آن به ۵۰ تا ۶۰ سانتیمتر می‌رسد. ولی در عرض، شاخ و برگ آن نسبتاً زیادتر و برگ‌های آن هم بزرگتر می‌باشد. این یونجه را در سال می‌توان هفت بار برداشت نمود.

- **یونجه بمی:** این یونجه مخصوص مناطق گرم است. شاخ و برگ این رقم از ارقام فوق بیشتر می‌باشد و ارتفاع آن حد واسط آنها است. این رقم اگر در نواحی گرمسیری با شرایط مناسب کاشته شود بیش از ۱۰ چین خواهد داشت. برخی یونجه شیرازی را همان یونجه بمی در نظر می‌گیرند ولی به احتمال زیاد این دو باهم اختلاف داشته باشند.

- **یونجه بغدادی:** این یونجه مخصوص نواحی گرمسیری است که در نواحی جنوب ایران و در استان خوزستان کشت می‌شود. این رقم در برابر گرمای سوزان استان خوزستان مقاومت داشته و

عملکرد خوبی از خود نشان می‌دهد ولی میزان احتیاج آن به آب نسبتاً زیاد است. برگ‌های آن پهن و بوته‌های آن بلند است که در بعضی از فصول سال ارتفاع آن به بیش از ۱۰۰ سانتیمتر می‌رسد. ۳۰ تن علوفه سبز در ماه‌های مناسب تولید می‌کند و به طور متوسط ۸-۱۰ چین برداشت می‌شود.

۲-۱-۷ صفات بوتانیکی و خصوصیات مورفولوژیکی یونجه

تیره حبوبات با بیش از ۴۳۰ جنس و ۱۳۰۰۰ گونه یکی از بزرگترین تیره‌های گیاهی دوطپه‌ای است که دارای سه زیر تیره بوده و زیر تیره Papilionace شامل ۳۵۰ جنس و ده هزار گونه است. یونجه دارای گونه‌ها و واریته‌های متعددی است که برخی از آنها به اسم خودشان مشهور شده‌اند (صانعی و شریعت پناهی، ۱۳۶۲).

- ریشه: یونجه دارای ریشه مستقیم بوده که از رشد مریستم انتهایی ریشه حاصل می‌شود. به موازات ریشه اولیه قسمت زیر لپه نیز رشد کرده و لپه‌ها را از خاک خارج می‌کند. ریشه اصلی معمولاً در طول زندگی نامحدود گیاه دائماً در حال رشد است و در شرایط مساعد بیش از ۸ متر رشد می‌کند (Hanson, a, 1988). ریشه‌های اصلی دارای ریشه‌های فرعی زیادی است که شعاع پراکندگی آنها از ریشه اصلی نسبتاً کمتر است نوع ریشه راست، ثانویه و افشان، در یونجه‌های دائمی مشاهده می‌شود. ریشه‌های افشان در عمق ۲۰ سانتیمتری خاک قرار گرفته و بیشترین گره‌های تثبیت نیتروژن را دارا هستند (Vipond & Swift, 1992). تمام واریته‌های یونجه در خاک‌های فشرده ریشه‌های فرعی خود را توسعه می‌دهند. در حالیکه، در خاک‌های سبک شنی ریشه اصلی رشد بیشتری می‌کند (کوچکی، ۱۳۶۶). ارتباط معنی‌داری بین مساحت تاج پوشش و قطر طوقه ریشه در شرایط تنش رطوبتی وجود دارد (کابلی، ۱۳۷۹). مع الوصف نوع خاک، رطوبت و سطح سفره‌های آب زیرزمینی و ساختار ژنتیکی گیاه در گسترش ریشه یونجه مؤثر است. برخوردار بودن این گیاه از یک سیستم ریشه‌ای قوی عامل موفقیت آن در مقابل عوامل نامساعد محیطی منجمله سرما و خشکی و همچنین استفاده از مواد غذایی تحت الارض به شمار می‌آید.

- ساقه: ساقه اصلی یونجه، تقریباً چهار گوش به نظر می‌رسد و مغز آن از سلول‌های پارانشیمی نسبتاً بلند و فشرده پر شده است. ساقه اصلی و پنجه دارای انشعاب‌های بسیار زیاد ظریفی است که هر کدام برگ‌های مرکب زیادی در بردارند. ساقه یونجه نزدیک سطح خاک، انشعاب‌های زیادی تولید می‌کند که به مرور زمان، چوبی و ضخیم و به یک طوقه تبدیل می‌شود (کریمی، ۱۳۶۹). تعداد ساقه‌های یونجه بین ۵ تا ۴۰ عدد است که از طوقه خارج و از هر ساقه، بعد از چیدن یا رسیدن بذر ساقه دیگری تولید می‌شود. ارتفاع ساقه در ارقام مختلف یونجه فرق می‌کند. معمولاً بین ۱۰ تا ۶۰