مجله دانش کشاورزی و تولید پایدار/ جلد 20/2 شماره 2 / سال 1389

بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های گیاه سنگینک (*Lathyrus sativus* L.) ایران از لحاظ صفات زراعی و پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه

ناصر مهنا[1]، مصطفی ولیزاده[2] و جاوید عمارت پرداز[3*]

تاریخ دریافت: 88/8/7 تاریخ پذیرش: 89/2/7

1- استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

2- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

3- دانشجوی دکتری رشته زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه E-mail: javid_Emarat@yahoo.com

چکیده

با توجه به کاهش تعداد گونه‌های زراعی قابل دسترس برای اصلاح کنندگان نباتات ، بررسی گیاهان زراعی غیر مشهور مانند گیاه سنگینک (*Lathyrus sativus*) ضروری به نظر می‌رسد. در این تحقیق به منظور بررسی تنوع صفات زراعی و ریخت‌شناختی بین توده‌های بومی سنگینک ایران ، 26 توده در قالب یک طرح حجیم شده به صورت بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تکرار و سه شاهد در مزرعه کاشته شدند. صفات زمان رسیدگی، تعداد نیام در بوته، تعداد دانه در نیام، بیوماس خشک، وزن صد دانه و عملکرد دانه در بوته مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه‌های آماری داده‌ها نشان داد که بین توده‌ها از لحاظ صفات زراعی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در این آزمایش ، تعداد نیام در بوته، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه، همبستگی بالایی را با عملکرد دانه در بوته داشتند. تجزیه کلاستر توده‌ها بر اساس صفات زراعی به روش UPGMA، توده‌های مورد مطالعه را به سه گروه جدا گانه تقسیم نمود : الف) توده‌های تبریز1و2، ب) توده اراک -246 و ج) سایر توده‌ها. تنوع پروتئین‌های کل ذخیره‌ای دانه در این 26 توده سنگینک و دو گونه *Lathyrus cicer* و *L. ochrus* با استفاده ازروش الکتروفورز SDS-PAGE مورد مطالعه قرار گرفت و در مجموع تعداد 19 نوار پروتئینی برای آن‌ها تشخیص داده شد. تجزیه کلاستر توده‌ها و گونه‌ها بر اساس وجود و عدم وجود نوارهای پروتئینی به روش UPGMA وبا معیار فاصله ضریب تطابق ساده توانست توده سنگینک تبریز و دو گونه دیگر را از بقیه توده‌ها تفکیک نماید وسایر توده‌ها در یک خوشه جداگانه قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه، تنوع ژنتیکی، سنگینک، *Lathyrus*

Analysis of Genetic Diversity in Iranian Grasspea Landraces (*Lathyrus sativus* L.) based on Agronomic Traits and Seed Storage Proteins

N Mahna[1], M Valizadeh[2] and J Emaratpardaz[3*]

Received: 29 October 2009 Accepted: 27 April 2010
[1] Assistant Prof, Dept of Horticultural Science, University of Tabriz, Iran
[2] Prof, Dept of Agronomy and Plant Breeding, University of Tabriz, Iran
[3] PhD Student of Agronomy, University of Tabriz, Iran
[3]*Corresponding author: E-mail: javid_Emarat@yahoo.com

Abstract

Regarding the decreasing number of the available crop species for plant breeders, the study of "ignored" crops seems necessary, one of which is grasspea (*Lathyrus sativus*). In order to evaluation of the Iranian landraces of grasspea for agro-morphological traits, 26 accessions were planted in the field as an augmented design based on a complete block design with five replications. Some traits, such as date of maturity, number of pods/plant, number of grains/pod, dry biomass, one-hundred grain weight, and grain yield per plant were studied. The analysis of variance showed that there is a significant difference between the agro-morphological traits.The cluster analysis of the landraces for their agro-morphological traits using UPGMA method resulted in three distinct groups: 1) Tabriz-1 and Tabriz-2, 2) Arak-246, and 3) the others. The diversity of the aforesaid 26 grasspea landraces as well as *Lathyrus ochrus* and *L. cicera* species for their total seed storage proteins using SDS-PAGE method was studied and 19 protein bands identified. The cluster analysis based on the SDS-PAGE results through UPGMA method and simple matching coefficient could separate Tabriz-2 as well as the two species from the remaining of the landraces being in a single group.

Keywords: Genetic diversity, Grasspea, Seed storage proteins, *Lathyrus sativus*

مقدمه

انسان تاکنون دست کم 6000 گونه گیاهی را برای مصارف گوناگون به کار برده است ولی فقط تعداد کمی از آنها به عنوان غذا مورد استفاده قرار گرفته‌اند (کمپل وهمکاران 1994) . بنا براین، محدودیتی از نظر گونه‌های مورد نظر بوجود آمده است که به خطر جدی مبنی بر تقلیل مواد گیاهی قابل دسترس بشر اشاره دارد. برای مقابله با این خطر و جلوگیری از نابودی ذخایر ژنتیکی، مراکز متعددی در سراسر دنیا مبادرت به جمع‌آوری و حفظ این ذخایر می‌نمایند. در این راستا، بانک ژن ایران نیز اقدام به جمع‌آوری و نگهداری ژرم‌پلاسم گیاهان مختلف ایران نموده است. قسمت اعظم این ذخایر ژنتیکی ایران ناشناخته بوده و نیاز به تحقیقات وسیع و همه جانبه بر روی آنها دارد.

یک رهیافت برای رسیدن به این هدف، استفاده از گیاهان زراعی غیرمشهور است که در دنیا سطح زیر کشت اندکی را به خود اختصاص داده‌اند.

یکی از این گیاهان، گیاه سنگینک (*Lathyrus sativus* L.) است که گیاهی چند منظوره می‌باشد. این گیاه متعلق به خانواده لگومینوز (نیامداران) و طایفه

Vicieae بوده و دارای فرمول ژنومی (2n =2x =14) می‌باشد.

جنس *Lathyrus* گسترش زیادی داشته و دارای 160 گونه و 45 زیر گونه است که در 13 بخش[1] جای گرفته‌اند. *L. sativus* به همراه 33 گونه دیگر در بخش *Lathyrus* L. جای دارد. گونه‌های بخش *Lathyrus* به صورت یکساله و چند ساله می‌باشند (یانس و جکسون 1991 الف).

از بین 15 گونه موجود در بخش *Lathyrus*، فقط دو گونه یعنی *L. amphicarpos* و *L. cicera* از نظر بیولوژی و مورفولوژی رابطه نزدیک و معقولی با *L. sativus* دارند (یانس و جکسون 1991ب). چنین به نظر می‌رسد که بین گونه‌های *Lathyrus* ، مهم‌ترین گونه‌ها برای تولید دانه *L. sativus*، برای تولید غده *L. tuberosus* و برای تولید علوفه *L. cicer* می‌باشند. (دفلاکو و همکاران 1991).

از نظر قدمت و تکامل فرم‌های سنگینک *L. sativus*، تصور بر این است که فرم‌های دارای گل آبی و بذرهای خالدار و کوچک، قدیمی‌تر و ابتدائی‌تر باشند. توسعه فرم‌هایی با برگ‌های بزرگتر، ممکن است در نتیجه گزینش برای تیپ‌های علوفه‌ای صورت گرفته باشد (کمپل و همکاران 1994). موفقیت در اصلاح نباتات، مستقیماً به تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت پایه بستگی دارد. این جمعیت‌ها، به عنوان ماده اصلاحی تولید واریته‌های جدید، برای آن دسته از گونه‌ها به کار می‌روند که تاکنون هیچ گونه کار تحقیقاتی روی آن ها صورت نگرفته است و علاوه بر آن ، ممکن است به عنوان منشا ژن های مطلوب برای صفات در نظر گرفته شوند (اوکات و همکاران 2001)

سنگینک نیز یکی از گیاهانی است که تاکنون به طور گسترده مورد اصلاح قرار نگرفته است و از طرفی در کشورهایی مانند ایران، توده‌های بومی زیادی از این گیاه وجود دارد که تا به حال بررسی چندانی روی آنها صورت نگرفته و مطالعه هر چه بیشتر آن ضرورت دارد.

در اکثر گیاهان مرتعی از جمله سنگینک بررسی پروتئین‌های ذخیره‌ای می‌تواند ملاکی برای ارزیابی تنوع گونه‌ای باشد. پروتئین‌های ذخیره‌ای، ضمن داشتن چند شکلی (پلی‌مورفیسم) زیاد، بسیار باثبات می‌باشند (کوک 1992). این که از پروتئین بذر استفاده کنیم یا سایر بخش‌های گیاهی را برای استخراج پروتئین به کار بریم، تحقیقات استفاده از بذور غیر متورم را توصیه می‌نماید ، چرا که آنها از نظر چرخه زیستی در مرحله یکسانی قرار داشته و از نکته نظر فیزیولوژیک، نسبتاً پایدار هستند (بالدو و همکاران1990). عوامل محیطی، هر چند بر مقدار پروتئین‌های ذخیره‌ای تأثیر می‌گذارند ولی بر حضور آنها در بذور رسیده، بی‌تأثیر بوده یا تأثیر اندکی دارند و همانند ایزوزیم‌ها، نحوه توارث آنها به صورت هم‌بارزی است. با این تفاسیر، الگوهای الکتروفورزی پروتئین‌های بذور رسیده، به تنهایی یا همراه با سایر مارکرها ، معیار بسیار خوبی برای شناسایی جوامع مختلف گیاهی و ارقام است. هر چند اکثر تجزیه و تحلیل‌های پروتئین‌های ذخیره ای در گونه‌هایی به کار رفته است که بذر قسمت خوراکی آنها را تشکیل می‌دهد. با این حال پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر برای شناسایی ارقام گیاهان مرتعی نیز به کار رفته است (فرینگ اوغلو و همکاران 1995) .

آلبا و همکاران (2001) تنوع ژنوتیپی 52 توده *L. sativus* را از نظر چند آنزیم با استفاده از الکتروفورز ژل نشاسته مورد بررسی قرار دادند و برای همه آنزیم‌ها چند شکلی مشاهده شد. در بررسی پولینانو و همکاران (2009) هیچ گونه همبستگی بین محل جمع‌آوری و گروه‌بندی توده‌ها بر اساس رنگ گل مشاهده نگردید.و جالب اینکه درصد دگربارووری بیش از حد انتظار برآورد گردید.

با توجه به محاسن این گیاه از قبیل مصرف چند منظوره (تغذیه انسان، چرای دام، علوفه خشک و غیره)، تثبیت ازت اتمسفر، تحمل در برابر تنش‌های محیطی و مقاومت به بسیاری از آفات (تالوکدار 2009) و نیز لزوم بررسی و مطالعه ذخایر ژنتیکی ایران، در این تحقیق، تعدادی از توده‌های بومی سنگینک ایران از بانک ژن دریافت گردیده و تنوع آنها از لحاظ صفات

[1]Section

مورفولوژیک و پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

بذر44 توده سنگینک با منشا مختلف از بانک ژن در یافت گردید و 26 توده پس از آزمایشات ارزیابی مزرعه‌ای به همراه دو گونه خارجی *L. ochrus* و *L. cicer* از کشور یونان از لحاظ پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر مطالعه شدند. (جدول 1).

آزمایش مزرعه‌ای در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز واقع در اراضی کرکج و مطالعه پروتئین‌های ذخیره‌ای در آزمایشگاه الکتروفورز دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام یافت.

به دلیل زیاد بودن توده‌های مورد مطالعه (44 توده) و نیز کم بودن تعداد بذور دریافتی از بانک ژن و در نتیجه عدم امکان استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی و تکرار مناسب، به منظور بر آورد اشتباه آزمایشی و فراهم کردن امکان انجام آزمایش ، از طرح حجیم شده[1] ارائه شده توسط فدرر (2005) استفاده گردید. در این طرح به منظور برآورد خطا و اثر بلوک ناقص، تعدادی شاهد همراه با توده‌های مورد نظر، مقایسه می گردند.

به منظور استخراج پروتئین‌های محلول در نمک؛ پنج بذر از هر توده مورد استفاده قرارگرفت. در تهیه تهیه ژل SDS-PAGE به منظور عدم تماس یا تنفس مونوآکریلامید، ابتدا محلول‌های ذخیره تهیه شده و پس از قرار دادن نمونه‌های پروتئینی در حفره‌های ژل 4/5 درصد و اتمام نمونه‌گذاری، الکتروفورز برای ژل به ابعاد 0/2×16×12 سانتی‌متر با شدت جریان ثابت 25 میلی‌آمپر انجام شد. الکتروفورز حدود چهار ساعت به طول انجامید. رنگ‌آمیزی ژل به مدت سه ساعت در یک محلول رنگ‌آمیزی (0/1 درصد آبی کوماسی در محلول متانول با نسبت پنج، آب با نسبت پنج و اسید استیک با نسبت 2) روی شیکر انجام گرفت. ژل پس از بروز نوارهای واضح پروتئینی و بی‌رنگ شدن کامل زمینه، در اسید استیک هفت درصد به مدت 24 ساعت تثبیت شد و سپس در آب مقطر نگهداری گردید (بروجویس 1990) .

تجزیه و تحلیل‌های آماری مربوط به الکتروفورز پروتئین‌ها

پس از رنگ‌آمیزی پروتئین‌های موجود در روی یک ژل و عکس‌برداری و یادداشت‌برداری از آنها، نوارها یا مارکرهای پروتئینی به صورت کیفی ارزیابی شدند. هر نوار بر حسب حرکت نسبی (RM)[2] یا فاکتور وضوح (RF)[3] نامگذاری گردید. RM یا RF عبارت است از نسبت حرکت نوار روی ژل با حرکت آبی بروموفنول که در رأس بافر حرکت می‌کند:

به منظور تجزیه کلاستر و یافتن فاصله‌های ژنتیکی، بسته به حضور یا عدم حضور پروتئین در یک جایگاه خاص، از کدهای 1 و صفر استفاده گردید. سپس ماتریس داده‌ها تشکیل و ماتریس فاصله ژنتیکی مستقیماً با نسبت تعداد جفت‌های یک و صفر به تعداد

[1] Augmented design

[2] Relative mobility

[3] Resolution factor

جدول 1- ویژگی‌های توده‌های سنگینک دریافتی از بانک ژن ایران و گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریزدرسال 1386

ردیف	شماره بانک ژن	محل جمع آوری	ردیف	شماره بانک ژن	محل جمع‌آوری
1	TN-63-24	یزد	16	214	اراک
2	40	اصفهان	17	243	همدان
3	49	جیرفت	18	246	اراک
4	59	کرج	19	288	لرستان
5	69	خراسان	20	308	آذربایجان شرقی
6	81	چهار محال بختیاری	21	314	کرمان
7	108	چهار محال بختیاری	22	333	خراسان
8	140	اصفهان	23	379	کرمان
9	145	اصفهان	24	385	کرمان
10	146	خراسان	25	334	کرمان
11	150	چهار محال بختیاری	26	گروه زراعت-1	تبریز
12	157	شیراز	27	گروه زراعت-2	تبریز
13	190	خراسان	28	گروه زراعت-3	نقده
14	196	اصفهان	29	گروه زراعت-4	مشهد
15	202	شیراز			

کل نوارها محاسبه شد. از این طرز محاسبه، شاخص ضریب تطابق ساده[1] حاصل شد (ولیزاده 1376). در این روش نیازی به استاندارد کردن داده‌ها نیست و عدم وجود یک نوار به اندازه وجود آن در تشکیل ماتریس شباهت بین گونه‌ها و توده‌ها (و در نتیجه، تشکیل فاصله ژنتیکی) شرکت می‌کند. بالاخره، فاصله‌های ژنتیکی با استفاده از روش UPGMA و برنامه کامپیوتری NTSYS به دندروگرام تبدیل شده و مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

برای همه صفات اندازه گیری شده، بین توده‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد مشاهده گردید. توده‌های شاهد از نظر صفات نظر تعداد دانه در نیام، عملکرد دانه در بوته، وزن صد دانه، زمان رسیدگی و تعداد دانه در بوته اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ولی از لحاظ تعداد نیام در بوته و بیوماس خشک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در این آزمایش، تعداد نیام در بوته، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه، همبستگی بالایی را با عملکرد دانه در بوته داشتند (جدول 2).

صفات تعداد نیام در بوته، عملکرد دانه در بوته، بیوماس خشک، وزن صد دانه و تعداد دانه در بوته

[1] Simple Matching

دامنه تغییرات نسبتا زیادی داشتند، ولی از نظرتعداد دانه در نیام و زمان رسیدگی دامنه تغییرات چندان زیاد نبود. دامنه وسیع برای وزن صد دانه توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (محمدی نسب 1374). تنوع زیاد بین توده‌ها از نظر صفات مورد بررسی، امکان گزینش ارقام برتر را برای اصلاح گران فراهم می‌سازد. توده اراک-246 از نظر تعداد نیام در بوته، عملکرد دانه در بوته، میانگین بسیار بالا تری، در مقایسه با سایر توده‌ها، برخوردار بود و در مقابل توده شیراز در پایین‌ترین مرتبه قرار گرفت. توده اراک-246 از نظر تعداد نیام در بوته، عملکرد دانه، بیوماس و تعداد دانه در بوته، بیوماس خشک و تعداد دانه در بوته میانگین بسیار بالاتری، در مقایسه با سایر توده‌ها داشت و در مقابل توده شیراز دارای کمترین مقدار بود. توده اراک- 246 دیررس‌ترین و توده خراسان-146 زودرس‌ترین از جنبه زمان رسیدگی بودند. توده تبریز-2 از بیشترین و توده کرمان-385 از کمترین وزن صد دانه برخوردار بودند. در مورد تعداد دانه در نیام، اختلاف فاحش بین توده‌ها نبود ولی در مجموع، توده اراک-214 بیشترین تعداد دانه خود اختصاص داد (جدول 2). رنگ گل در کلیه توده‌ها به غیر از توده‌های تبریز، آبی خالص بود ولی در توده‌های تبریز 1و 2،سه رنگ گل متفاوت آبی خالص ،سفید خالص و بینابین مشاهده شد. رنگ دانه در تمام توده‌ها به غیر از توده تبریز، ابلق (رنگارنگ) و خالدار بود. با وجود این، تعداد نقاط رنگی روی دانه بین توده‌ها و نیز داخل توده‌ها بسیار متغیر بود ولی در توده تبریز، سه رنگ دانه متفاوت مشاهده شد که عبارت ازسفید خالص بدون رگه سیاه (متعلق به گل‌های سفید خالص)، ابلق (متعلق به گل‌های آبی خالص) و سفید شیری با رگه سیاه در وسط (متعلق به گل‌های با رنگ بینابین) بودند. بررسی رنگ گل و دانه از این نظر مهم می‌باشد که طبق مطالعات انجام شده، بوته‌های با رنگ گل سفید حاوی سم BOAA[1] بیشتری نسبت به بوته‌های با رنگ آبی خالص هستند (کوادر1991، تیواری و کمپل 1996).

دانه‌های رنگی (ابلق) در مقایسه با دانه‌های سفید، حاوی سطوح بالاتری از تانن ها هستند (دشپند و کمپل 1992) در مقابل داهیا و جسوانی (1989) ابراز کرده‌اند که برای گزینش ژنوتیپ‌های باBOAA کمتر، باید بوته‌ای با دانه روشن را انتخاب نمود. با این تفسیر، توده تبریز به علت داشتن دانه‌ای رنگ روشن و سفید، احتمالا دارای میزان سم BOAA و تانن کمتری نسبت به سایر توده‌ها می‌باشد که از لحاظ اصلاحی حائز اهمیت می-باشد و بهتر است از این نظر آزمایش شود. شکل دانه تقریبا در تمامی توده‌ها یکسان و به شکل گرد و گوشه-دار بود ولی در توده‌های سنگینک تبریز 1 و 2 به صورت تخت بود. با توجه به نتایج بالا، توده اراک-246 از نظر عملکرد و اجزای آن و توده‌ای تبریز احتمالا از نظر میزان پایین سموم برای برنامه‌ای اصلاحی مناسب خواهند بود.

پس از انجام الکتروفورز عمودی به روش SDS-PAGE پروتئین‌های کل ذخیره‌ای دانه 26 توده سنگینک بومی ایران (*L. sativus*) و دو گونه دیگر این جنس یعنی *L. ochrus* و *L. cicer* (هر دو از کشور یونان)، در مجموع 19 موقعیت برای تشکیل نوارها تشخیص داده شد. تعداد نوارهای مشاهده شده برای توده تبریز-2 و دو گونه *L. cicer* و *L. ochrus* متفاوت از سایر توده‌های گونه *L. sativus* بود و بین این سه توده مذکور تفاوتی در تعداد نوار مشاهده نشد. در گونه *L. cicer* کمترین تعداد نوار (11نوار) و در توده‌های گونه *L. sativus* بیشترین تعداد نوار (16 نوار) مشاهده شد. گونه *L. ochrus* نیز 14 نوار پروتئینی را نشان داد. حرکت نسبی، برای اولین موقعیت نوار 0/042 و آخرین موقعیت نوار 0/588 بود.

[1] Beta-N-oxalyl-amino-L-alanine acid

جدول ۲- میانگین صفات زراعی اندازه‌گیری شده در توده‌های سنگینک ایرانی

ردیف	شماره‌بانک ژن	محل جمع آوری	تعداد نیام در بوته	تعداد دانه در نیام	عملکرد دانه در بوته (گرم)	بیوماس خشک (گرم)	وزن صد دانه (گرم)	زمان رسیدگی (روز)	تعداد دانه در بوته
۱	TN-۲٤-٦۳	یزد	۳۱/۳۷	۲/۹۷	٦/۰٦	۷/۷۱	٦/۵۱	۱۰۳/٦۲	۹۳/۱۲
۲	٤۰	اصفهان	۳٤/٦۰	۳/۱۹	۸/۵۵	۱۹/۷۰	۷/۷۵	۱۰۰/۸۰	۱۱۰/٤۰
۳	٤۹	جیرفت	٦۷/۱۲	۳/۰۳	۱٤/۵۹	۵۳/۳۲	۷/۱۸	۱۰۰/۷۵	۲۰۳/۲۵
٤	۵۹	کرج	۳٦/۰۰	۲/۹۹	۹/۱۵	۷/۹٤	۸/٤۹	۹۸/٦٦	۱۰۷/۷۷
۵	٦۹	خراسان	۲۸/۰۰	۲/۷۵	۵/۷۸	۱۱/٤٦	۷/۵۱	۱۰۸/۰۰	۷۷/۰۰
٦	۸۱	چهار محال بختیاری	۵۰/۸۸	۲/۹۲	۱٤/۱۵	۱۳/۹۷	۹/۵۲	۹۹/۱۱	۱٤۸/٦٦
۷	۱۰۸	چهار محال بختیاری	۳۹/۱٦	۲/۹۷	۱۱/۵۹	۱۵/٦۰	۹/۹٦	۱۰٤/۰۰	۱۱٦/۳۳
۸	۱٤۰	اصفهان	٤٤/٦٦	۲/٦۵	۱۱/٤۱	۱۱/۹۰	۹/٦۳	۱۰۲/۳۳	۱۱۸/۵۰
۹	۱٤۵	اصفهان	٤۹/٤۰	۲/۹٦	۱۱/۳٦	۱۵/۰٦	۷/۷٦	۱۰۲/٤۰	۱٤٦/٤۰
۱۰	۱٤٦	خراسان	٤۲/۸۵	۳/۱۲	۹/۰۰	۱۳/۷۵	٦/۷٤	۹۵/۸۵	۱۳۳/۵۷
۱۱	۱۵۰	چهار محال بختیاری	۳٤/۸۳	۲/۸۱	۹/۲۱	۸/۹۳	۹/٤۱	۱۰۰/۱٦	۹۷/۸۳
۱۲	۱۵۷	شیراز	۲۵/۱۱	۲/۸۲	۵/٤۹	۵/۷۵	۷/۷۵	۹۷/۲۲	۷۰/۸۸
۱۳	۱۹۰	خراسان	٤۳/٤۰	۲/۹۰	۱۲/۰۱	۱۰/٤۰	۹/۵۳	۱۰۳/٤۰	۱۲٦/۰۰
۱٤	۱۹٦	اصفهان	٤٤/٦۰	۲/۵٤	۸/۲٤	۹/۵۲	۷/۲۸	۹۷/۲۰	۱۱۳/۲۰
۱۵	۲۰۲	شیراز	٤۲/۰۰	۲/٦۹	۱۰/۲۷	۱۰/۷۰	۹/۱۱	۹۷/٦۰	۱۱۲/۸۰
۱٦	۲۱٤	اراک	٤۲/۰۰	۳/٤٦	۱۳/۰۰	۱۳/۰۳	۸/۹٤	۱۰۰/۸۳	۱٤۵/۵۰
۱۷	۲٤۳	همدان	۷۱/۸۰	۲/۹۲	۱۷/۳٤	۱۷/٤۸	۸/۲۷	۱۰٤/٤۰	۲۰۹/۸۰
۱۸	۲٤٦	اراک	۹۳/٦٦	۲/۹۰	۲۱/۹۷	۳۰/۵۱	۸/۱۰	۱۰۹/٦٦	۲۷۱/۳۳
۱۹	۲۸۸	لرستان	۵۸/۰۰	۳/۰۲	۱۲/٦۸	۱۹/۸۲	۷/۲۵	۱۰٤/٦۰	۱۷۵/۰۰

ادامه جدول ۲

۲۰	۳۰۸	آ.شرقی	٦٢/٧٧	٢/٧٢	١٣/١٨	١٦/٣٤	٧/٧٢	١٠٥/٨٨	١٧٠/٦٦
۲۱	۳۱٤	کرمان	٥٤/٦٢	٢/٩٢	١١/٦٣	١٢/٦١	٧/٣٠	١٠١/٥٠	١٥٩/٢٥
۲۲	۳۳۳	خراسان	٤٧/٦٢	٢/٨٩	١٠/٢٦	١٠/٨٧	٧/٤٧	٩٨/١٢	١٣٧/٣٧
۲۳	۳۷۹	کرمان	٢٧/٨٧	٣/٢٥	٧/٠١	٧/٩١	٧/٧٥	٩٨/٢٥	٩٠/٥٠
۲٤	۳۸٥	کرمان	٥٠/٨٠	٢/٣٥	٧/١٤	١١/٦٨	٥/٩٩	١٠٠/٢٠	١١٩/٢٠
۲٥	۳۸۰	تبریز-۲	٤٣/٤٠	٢/٠٢	١٤/٧٩	١٥/٢٠	١٦/٨٥	١٠١/٤٠	٨٧/٨٠
۲٦	۳۳٤	کرمان	٤١/٥٠	٣/١٧	٨/٧٢	١٢/٥٠	٦/٦٣	١٠١/٢٥	١٣١/٥٠
۲۷	شاهد-۱	نقده	٤٤/٣٠	٣/٠٢	٩/٦٤	١٣/٥١	٧/٢٧	١٠٦/١٥	١٣٢/٦٣
۲۸	شاهد-۲	تبریز-۱	٣٨/٩٢	٢/٠٦	١٣/٠٩	١٤/٤٢	١٦/٥١	١٠٠/٧٩	٧٩/١٦
۲۹	شاهد-۳	مشهد	٣٧/٠٣	٢/٨٥	٧/٧٩	١٠/٦٦	٧/٥٠	١٠٤/٧٤	١٠٦/٦٥
دامنه تغییرات			٦٨/٥٥	١/٢٣	١٦/٤٨	٢٤/٧٦	١٠/٨٦	١٣/٨١	٢٠٠,٤٥
LSD٥٪ (شاهد با شاهد)			١٧/٩٥٠	٠/٤٣٠	٤/٤٦٠	٥/١٣٩	١/٣٥٨	٣/٩٢٨	٤٥/٤٢٥
LSD٥٪ (شاهد باتوده)			٣٥/٩٠١	٠/٨٦١	٨/٩٢١	١٠/٢٧٧	٢/٧١٧	٧/٨٥٧	٩٠/٨٥١
LSD٥٪ (توده با توده)			٤٠/١٣٩	٠/٩٦٣	٩/٩٧٤	١١/٤٩٠	٣/٠٣٧	٨/٧٨٤	١٠١/٥٧٥
LSD٥٪ (متوسط)			٤٣/٣٥٥	١/٠٤٠	١٠/٧٧٣	١٢/٤١٠	٣/٢٨١	٩/٤٨٨	١٠٩/٧١٣

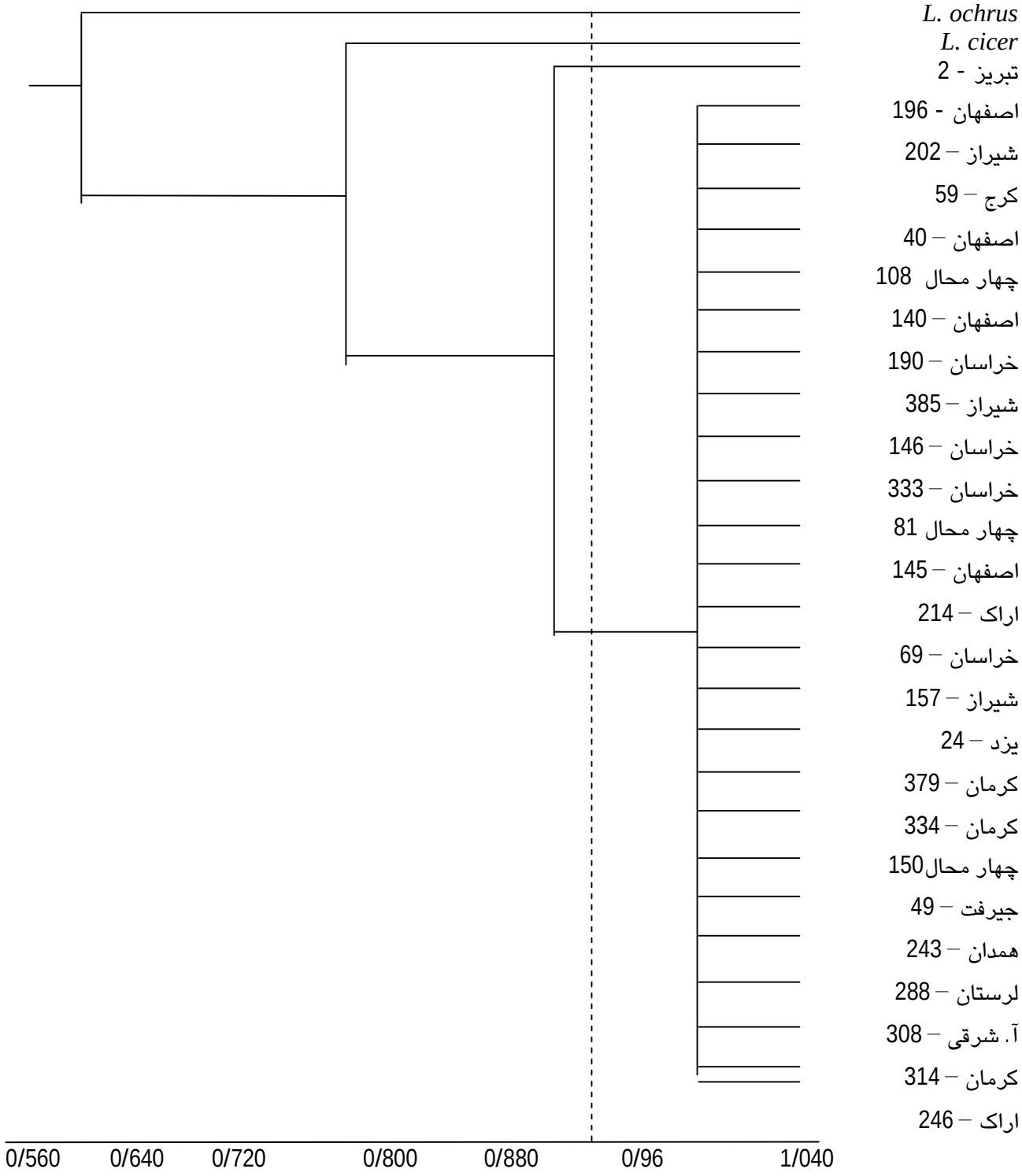
تجزیه کلاستر بر اساس نوارهای پروتئینی

الگوی نوارهای پروتئینی ژنوتیپ‌ها می‌تواند مبنایی برای گروه‌بندی آنها باشد. برای بررسی و مقایسه الگوهای پروتئینی مواد گیاهی مورد آزمایش، اطلاعات حاصل از الگوی نواربندی در یک ماتریس صفر و یک تنظیم و تجزیه کلاستر بر اساس ضریب تطابق ساده[1] و به روش UPGMA انجام گردید (شکل 1). با برش دندروگرام در فاصله 0/96 واحد، چهار کلاستر حاصل گردید. گونه *L. ochrus* در یک کلاستر مجزا، گونه *L. cicer* در کلاستر مجزای دیگر، توده تبریز-2 در کلاستر سوم و بقیه توده‌های گونه *L. sativus* در کلاستر چهارم قرار گرفتند. مطالعات نشان می‌دهند که SDS-PAGE پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه روش خوبی برای تشخیص گونه‌ها است. به عنوان مثال سینگ و همکاران (1994) در مطالعه‌ای بر روی گونه‌های جنس *Arachis* شامل بادام زمینی و گونه‌های هم‌جنس و همچنین ولیزاده (1376) در گونه‌های *Medicago* شامل یونجه زراعی و یونجه‌های یکساله نشان دادند که SDS-PAGE به خوبی می‌تواند گونه‌های این جنس‌ها را از هم تفکیک کند. نتیجه این آزمایش نیز دال بر این ادعا است و همان طور که ملاحظه می‌گردد، سه گونه *L. sativus*، *L. ochrus* و *L. cicer* در کلاسترهای جداگانه‌ای قرار گرفتند و روش مذکور در تفکیک این گونه‌ها کارا می‌باشد ولی در تفکیک توده‌های مختلف گونه *L. sativus* بومی ایران به غیر از توده تبریز (که احتمالاً زیر گونه‌ای را تشکیل می‌دهد) کارایی چندانی نداشته است.

برای گروه‌بندی توده‌های مختلف سنگینک ایران، استفاده از روش الکتروفورز پروتئین‌های خاص (نه پروتئین‌های کل) ذخیره‌ای دانه احتمالاً روش کاراتر و مؤثرتری خواهد بود که نیاز به تحقیقات وسیع‌تری دارد. انجام روش‌های خاص استخراج و الکتروفورز پروتئین‌ها در گندم (اهدایی 1373)، لوبیا (گل گلاب 1356)، پنبه (فرشادفر1376) و در برخی از گونه‌های تیره پروانه‌آسایان[2] (ولف 1980) و غیره در تشخیص و گروه‌بندی تنوع درون گونه‌ای کاربرد زیادی پیدا کرده‌اند.

[1]Simple matching

[2]Papilionaceae



شکل 1- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر 26 توده مختلف *L. sativus* و دو گونه *L. cicer* و *L. ochrus* بر اساس پروتئین‌های کل ذخیره‌ای دانه به روش UPGMA

منابع مورد استفاده

اهدائی ب، 1373. اصلاح نباتات ، نشر مشهد.

فرشادفر ع، 1376. روش‌شناسی اصلاح نباتات. دانشگاه رازی کرمانشاه.

گل‌گلاب ح، 1356. گیاه، راهنمای گیاهی. چاپ دوم. ناشر: کتابفروشی دهخدا، تهران.

محمدی‌نسب س ح، 1374. کاربرد الکتروفورز در گیاه زراعی سنگینک و تجزیه ژنتیکی آنزیم‌های مورد مطالعه. پایاننامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

ولیزاده م، 1376. استفاده از الکتروفوزپوتیین‌ها در ازیابی فاصله ژنتیکی گونه‌های یونجه. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد 28 ,شماره 2:9-17.

Alba E, Polignano GB, De Carlo D and Mincione A, 2001. Electrophoretic phenotype of different enzymes in some entries of *Lathyrus sativus* L. Center for Legumes in Mediterranean Agriculture, University of Western Australia. Lathyrus Lathyrism Newsletter 2(1): 15-20.

Baldev BS, Ramanujam and Jain HK, 1990. Pulse crops. Publishing Co. P. vt. Ltd. India.

Borojevic S, 1990. Principles and methods of plant breeding. Elsevier Science Publishers B. V.

Campbell CG, Mehra RB, Agrawal SK, Chen AM, Abd-El Moneim A, Khawaja CR, Yadov, Tay JV and Araya WA, 1994. Current status and future strategy in breeding grasspea (*Lathyrus sativus*). Euphytica 73: 167-175.

Cooke RJ, 1992. The use of electrophoresis for plant variety identification. Pp: 171-191. In: Agrawal PK, and Dadlani M. Techniques in seed science and technology. South Asian Publishers. New Delhi. Int. Book Co., N. J.

Dahiya BS and Jeswani LM, 1989. Estimation of genetic variance by full-sib and half-sib analysis in grasspea. Indian J Agric Sci 44: 829-832.

De Flaco EF, Basso and Ianneli P, 1991. Morphological and productive features of ecotypes of chickling vetch (*Latyrhus sativus* L.). Agr Med 121: 99-109.

Deshpande SS and Campbell CG, 1992. Genotype variation in BOAA, condensed tannins, phenolics and enzyme inhibitors of grasspea (*Lathyrus sativus*). Canadian J Plant Sci 72(4): 1037-1047.

Federer WT, 2005. Augmented split block experiment design. Agron J 97: 578-586.

Firingioglu H, Karagullu N, Unal S, Abd-El Moneim A and Beniwal SPS,1995. Improving feed legumes for the central highlands of Turkey. Regional symposium on integrated crop-livestock system in the dry areas of West Asia and North Africa: Amman (Jordan). ICARDA, p 34.

Ochatt S, Durieu P, Jacas L and Pontecaille C, 2001. Protoplast, cell and tissue cultures for the biotechnological breeding of grasspea (*Lathyrus sativus* L.). Center for Legumes in Mediterranean Agriculture, University of Western Australia. Lathyrus Lathyrism Newsletter 2(1): 35-38.

Polignano GB, Bisignano V, Tomaselli V, Uggenti P, Alba V and Della Gatta C, 2009. Genotype ×Environment International in grasspea (*Lathyrus sativus* L.) lines. International J Agron 2009(1) : 1-7.

Quader, M. 1991. Heterosis in relation to gene action in Khesari (*Lathyrus sativus*, India). Indian J Genet Plant Breed 4(1-2): 55-57.

Singh AK, Gurtu S and Ramabunathan R, 1994. Phylogenetic relationship in the genus *Arachis* based on seed protein profiles. Euphytica 74: 219-225.

Talukdar D, 2009. Dwarf mutations in grasspea (*Lathyrus sativus* L.): Origin, morphology, inheritance and linking studies. J Genet 25: 165-175.

Tiwari KR and Campbell CG, 1996. Inheritance of neurotoxin (ODAP) content, flower and seed coat color in grasspea (*Lathyrus sativus* L.). Euphytica 91(2): 195-203.

Wolff, G. 1980. Investigation on the relations within the family Papilionaceae on the basis of electrophoretic banding patterns. Theor Appl Genet 57: 225-232.

Yuns AG and Jackson MT, 1991a. Phenotypic polymorphism of six enzymes in the grasspea (*Lathyrus sativus* L.). Euphytica 55(1): 33-42.

Yuns AG and Jackson MT, 1991b. The gene pools of the grasspea (*Lathyrus sativus* L.). Plant Breeding 106: 319-328.

جدول 2- میانگین صفات زراعی اندازه‌گیری شده در توده‌های سنگینک ایرانی

ردیف	شماره‌بانک ژن	محل جمع آوری	تعداد نیام در بوته	تعداد دانه در نیام	عملکرد دانه در بوته (گرم)	بیوماس خشک (گرم)	وزن صد دانه (گرم)	زمان رسیدگی (روز)	تعداد دانه در بوته
1	TN-24-63	یزد	31/37	2/97	6/06	7/71	6/51	103/62	93/12
2	40	اصفهان	34/60	3/19	8/55	19/70	7/75	100/80	110/40
3	49	جیرفت	67/12	3/03	14/59	53/32	7/18	100/75	203/25
4	59	کرج	36/00	2/99	9/15	7/94	8/49	98/66	107/77
5	69	خراسان	28/00	2/75	5/78	11/46	7/51	108/00	77/00
6	81	چهار محال بختیاری	50/88	2/92	14/15	13/97	9/52	99/11	148/66
7	108	چهار محال بختیاری	39/16	2/97	11/59	15/60	9/96	104/00	116/33
8	140	اصفهان	44/66	2/65	11/41	11/90	9/63	102/33	118/50
9	145	اصفهان	49/40	2/96	11/36	15/06	7/76	102/40	146/40
10	146	خراسان	42/85	3/12	9/00	13/75	6/74	95/85	133/57
11	150	چهار محال بختیاری	34/83	2/81	9/21	8/93	9/41	100/16	97/83
12	157	شیراز	25/11	2/82	5/49	5/75	7/75	97/22	70/88
13	190	خراسان	43/40	2/90	12/01	10/40	9/53	103/40	126/00
14	196	اصفهان	44/60	2/54	8/24	9/52	7/28	97/20	113/20
15	202	شیراز	42/00	2/69	10/27	10/70	9/11	97/60	112/80
16	214	اراک	42/00	3/46	13/00	13/03	8/94	100/83	145/50
17	243	همدان	71/80	2/92	17/34	17/48	8/27	104/40	209/80
18	246	اراک	93/66	2/90	21/97	30/51	8/10	109/66	271/33
19	288	لرستان	58/00	3/02	12/68	19/82	7/25	104/60	175/00

ادامه جدول 2

20	308	آ.شرقی	62/77	2/72	13/18	16/34	7/72	105/88	170/66
21	314	کرمان	54/62	2/92	11/63	12/61	7/30	101/50	159/25
22	333	خراسان	47/62	2/89	10/26	10/87	7/47	98/12	137/37
23	379	کرمان	27/87	3/25	7/01	7/91	7/75	98/25	90/50
24	385	کرمان	50/80	2/35	7/14	11/68	5/99	100/20	119/20
25	380	تبریز-2	43/40	2/02	14/79	15/20	16/85	101/40	87/80
26	334	کرمان	41/50	3/17	8/72	12/50	6/63	101/25	131/50
27	شاهد-1	نقده	44/30	3/02	9/64	13/51	7/27	106/15	132/63
28	شاهد-2	تبریز-1	38/92	2/06	13/09	14/42	16/51	100/79	79/16
29	شاهد-3	مشهد	37/03	2/85	7/79	10/66	7/50	104/74	106/65
دامنه تغییرات			68/55	1/23	16/48	24/76	10/86	13/81	200,45
LSD5% (شاهد با شاهد)			17/950	0/430	4/460	5/139	1/358	3/928	45/425
LSD5% (شاهد باتوده)			35/901	0/861	8/921	10/277	2/717	7/857	90/851
LSD5% (توده با توده)			40/139	0/963	9/974	11/490	3/037	8/784	101/575
LSD5% (متوسط)			43/355	1/040	10/773	12/410	3/281	9/488	109/713