مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۲، شماره ۴، ۱۳۹۰ (۷۰۴-۶۹۵)

ارزیابی ژنوتیپ‌های انتخابی اسپرس (*Onobrychis viciifolia*) از جوامع دارای تنوع طبیعی و القایی به لحاظ ویژگی‌های مورفولوژیک و زراعی

مرضیه بقائی‌نیا[۱]، محمد مهدی مجیدی[۲]* و آقافخرمیرلوحی[۳]
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و استاد دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۱۴ - تاریخ تصویب: ۹۰/۶/۲۳)

چکیده

اسپرس از گیاهان علوفه‌ای چند ساله است که بدلیل ارزش غذایی بالا و تحمل به تنش‌های محیطی مورد توجه می‌باشد، ولی کمبود تنوع ژنتیکی برای برخی صفات مهم زراعی گسترش کشت آن را محدود کرده است. القای تنوع به روش موتاسیون یکی از روش‌های کارآمد در بهبود ژنتیکی گیاهان است. در این مطالعه به منظور بررسی میزان تنوع القایی توسط موتاژن شیمیایی اتیل متان سولفونات (EMS) و مقایسه ژنوتیپ‌های موتانت با ژنوتیپ‌های گزینش شده تحت شرایط طبیعی، تعداد ۴۰ ژنوتیپ موتانت نسل سوم (گزینش شده از نسل دوم جامعه تحت موتاژن) به همراه ۳۹ ژنوتیپ غیرموتانت (گزینش شده از جامعه عادی) از نظر خصوصیات مرفولوژیک و زراعی به مدت دو سال تحت شرایط مزرعه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار تنوع در هر دو جامعه در سال اول مربوط به صفات نسبت برگ به ساقه و حساسیت به سفیدک سطحی و در سال دوم صفات عملکرد علوفه، درصد ساقه، نسبت برگ به ساقه و دیرزیستی بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که از نظر اکثر صفات بویژه عملکرد علوفه خشک و نسبت برگ به ساقه ژنوتیپ‌های موتانت بهتر از غیرموتانت‌ها بودند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای جداگانه برای ژنوتیپ‌های موتانت و غیرموتانت تنوع و گوناگونی بالا را در هر یک از جوامع تأیید کرد. در یکی از گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر در موتانت‌ها، ژنوتیپ‌هایی قرار گرفتند که در سال اول تنها تا مرحله رشد روزت پیش رفته و ساقه‌دهی و گلدهی آنها در سال دوم پس از زمستان‌گذرانی انجام شد که نشان می‌دهد موتاسیون نیاز به بهاره‌سازی را در این ژنوتیپ‌ها ایجاد کرده باشد. در مجموع نتایج نشان داد القای موتاسیون توانست سبب بروز تنوع در برخی صفات گردد که لازم است پایداری آن در نسل‌های بعدی بررسی گردد تا در صورت امکان بتوان از این تنوع برای گزینش ژنوتیپ‌های مناسب در پروژه‌های به نژادی تکمیلی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، گزینش، موتاسیون، تنوع، EMS

مقدمه

اسپرس (*Onobrychis viciifolia* Scop) یکی ازگیاهان چند ساله خانواده بقولات می‌باشد که به دلیل ویژگی‌های مطلوب نظیر ارزش غذایی بالا، عدم ایجاد نفخ در دام و حفظ حاصلخیزی خاک مورد توجه کشاورزان و به‌نژادگران گیاهی قرار گرفته است و کشت

* نویسنده مسئول: محمد مهدی مجیدی تلفن: ۰۹۱۳-۳۰۶۱۱۷۲ E-mail: majidi@cc.iut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

و کار آن از مدیترانه تا کوه‌های زاگرس و آسیای مرکزی توسعه یافته است (Delgado et al., 2008). این گیاه به دلیل مقاومت در برابر سرما، اغلب در مناطق سردسیری برای تولید علوفه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Shigaki et al., 1998). اسپرس گیاهی چندساله، مقاوم به خشکی و شوری، پرمحصول و دارای ارزش علوفه‌ای بالا بوده و برای کشت در اکوسیستم‌های خشک و بیابانی مناسب می‌باشد (Soares et al., 2000). کشت اسپرس در ایران از قدیم در مناطق مختلف کشور بویژه مناطق غیر مرطوب رایج بوده است. یکی از دلایل عدم سازگاری اسپرس در نواحی مرطوب، حساسیت به بیماری‌های قارچی نظیر سفیدک سطحی می‌باشد (Majidi & Arzani, 2003) در حالی‌که اسپرس در برابر بسیاری از آفات نظیر آفت سرخرطومی یونجه (*Hypera postica*) کاملاً مقاوم است (Miller, 1984). بنابراین توسعه کشت و کار اسپرس در مناطقی که امکان کشت شبدر و یونجه وجود ندارد مطلوب بوده و حتی می‌توان جهت افزایش عملکرد در واحد سطح آن را با شبدر، یونجه و گراس‌ها به صورت مخلوط کشت نمود (Kasper, 1990; Fairy & Lefkovitch, 1990).

امروزه از موتاسیون به عنوان ابزار مؤثری در اصلاح نباتات و بهبود محصولات کشاورزی استفاده می‌شود (Acharya et al., 2007). از مواد موتاسیون‌زا و القاء موتاسیون در مواردی چون ایجاد ارقام جدید، اصلاح صفات کمی و کیفی گیاهان، افزایش تنوع سوماکلونال در کشت بافت استفاده می‌شود (International Atomic Energy Agency, 1977; Hayward et al., 1993). در این راستا پژوهشگر در صورتی می تواند از موتاسیون به عنوان یک فن دقیق در اصلاح نباتات استفاده کند که از ساختار ژنتیکی و حساسیت گیاه به موتاژن آگاهی داشته باشد. مسأله مهم آن است که القاء جهش به چه میزان موتاژن و چه مدت زمان و تحت چه شرایطی صورت پذیرد که حداکثر سودمندی حاصل گردد این موارد برای موتاژن‌ها و گیاهان مختلف، متفاوت خواهد بود (Hayward et al., 1993). پرتوتابی و مواد جهش‌زای شیمیایی از رایج ترین روش‌ها جهت ایجاد موتاسیون مصنوعی در گیاهان هستند (Fehr, 1996). از بین ده‌ها موتاژن شیمیایی، اتیل متان سولفونات[1] (EMS) از متداول ترین موتاژن‌های شیمیایی بدین منظور می‌باشد (Agrawal, 2000). این ماده آلکالوئیدی به عنوان عامل جهش‌های نقطه‌ای، باعث پیدایش دامنه گسترده‌ای از آلل‌های موتانت، مانند حذف کارایی، ایجاد کارایی، تغییر در کارایی و تولید موتانت‌های جدید با خصوصیات ویژه می‌گردد (Penmetsa, 2000). اصلاح به روش موتاسیون همانند سایر روش‌های اصلاحی برای آزادسازی ارقام جدید به یک دوره چند ساله نیاز دارد چرا که برخی خصوصیات القایی که می‌توانند منجر به تغییر در ژنوتیپ‌های موتانت گردند، در نسل‌های پیشرفته خود را نشان می‌دهند و این مسئله در گیاهان دگرگشن بدلیل وجود هتروزایگوتی بالا و در برخی عدم امکان خودگشنی، اهمیت بیشتری پیدا می‌کند (Kharkwal, 1998).

Basu et al. (2008) با القای موتاسیون توسط EMS در شنبلیله گزارش کردند که از نسل اول (M_1) به نسل چهارم (M_4) میزان بقاء و زنده‌مانی، اندازه دانه و عملکرد دانه افزایش و ارتفاع بوته کاهش یافت ضمن این که موتانت‌های زودرسی نیز حاصل گردید. در بررسی اثر موتاسیون زایی غلظت‌های مختلف EMS و پرتو UV-C بر یونجه که توسط Naderi Shahab et al. (2007) انجام شد مشخص گردید که غلظت‌های کم EMS تأثیری در جوانه زنی بذرها نداشته اما افزایش غلظت EMS باعث کاهش تدریجی جوانه زنی گردید. در ضمن تیمار بذور با غلظت‌های مناسب EMS نسبت به پرتو UV بهترین نتیجه را در تولید گیاهان موتانت ایجاد کرد.

با توجه به اهمیت اسپرس در ایران به عنوان یک گیاه ارزشمند علوفه‌ای و کمبود تنوع ژنتیکی برای برخی صفات مهم (نظیر حساسیت به سفیدک سطحی، دیرزیستی و ...) (Majidi & Arzani, 2004) به نظر می‌رسد القای موتاسیون در این گیاه بتواند همچون موفقیت هایی که در سایر گیاهان دیگر حاصل شده است (Naderi-Shahab et al., 2007; Basu, 2008)، منجر به ایجاد تنوع ژنتیکی بیشتر گردد. در این راستا

1. Ethyl Methane Sulfonate

Archive of SID

www.SID.ir

بهینه‌سازی القای موتاسیون توسط ماده جهش زای اتیل متان سولفونات از طریق مطالعه آزمایشگاهی و بررسی نسل‌های اول و دوم توسط Majidi & Arzani (2004) انجام گرفت. با توجه به این که اسپرس یک گیاه دگرگشن و تتراپلوئید می‌باشد و برخی تغییرات القایی که می‌توانند منجر به ایجاد تنوع در ژنوتیپ‌های موتانت گردند، در نسل‌های پیشرفته‌تر خود را نشان می‌دهند، پژوهش حاضر اهداف زیر را دنبال می کند:

۱. ارزیابی تنوع در ژنوتیپ‌های نسل سوم موتاسیون (M_3) و مقایسه با ژنوتیپ‌های غیرموتانت از نظر صفات مختلف
۲. مقایسه ژنوتیپ‌های گزینش یافته موتانت و غیرموتانت از نظر عملکرد و ویژگی‌های مرفولوژیک و زراعی

مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی مورد بررسی در این پژوهش شامل تعداد ۴۰ ژنوتیپ گزینش شده از جامعه تحت تیمار موتاژن و ۳۹ ژنوتیپ گزینش شده از جامعه شاهد بودند. این مواد ژنتیکی مطابق توضیح زیر ایجاد شده بودند. در یک مطالعه اولیه (Majidi & Arzani, 2004) تحت شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای مؤثرترین غلظت ایجادکننده موتاسیون توسط موتاژن اتیل متان سولفونات (EMS) بر اساس معیارهایی نظیر غلظت ۵۰ درصد کشندگی (LD50) و کاهش رشد گیاهچه و گیاه بالغ در نسل اول موتاسیون (M1) تعیین گردید. به طوری که غلظت ۰/۶ درصد به مدت ۱۲ ساعت به عنوان دز بهینه EMS برای القا موتاسیون شناخته شدند. سپس گیاهان نسل دوم در سال ۱۳۸۵ در مزرعه مستقر گردیدند و از درون جامعه موتانت‌ها و غیر موتانت‌ها به طور جداگانه، بهترین ژنوتیپ‌ها (بر اساس کلیه صفات، جدول ۱) انتخاب شدند به طوری که تعداد ۴۰ ژنوتیپ برتر از جامعه موتانت به همراه ۳۹ ژنوتیپ از جامعه شاهد انتخاب و بذر آنها مواد ژنتیکی مطالعه حاضر را تشکیل داد. ژنوتیپ‌های موتانت و غیر موتانت به مدت دو سال (سالهای ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸) در قالب طرح بلوک‌های ناقص (آگومنت) با ۶ شاهد در ۳ بلوک در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان (واقع در نجف‌آباد) مورد بررسی قرار گرفتند. شاهدهای طرح شامل چهار توده محلی (گلپایگان، بوئین میاندشت، فریدونشهر و خوانسار) و دو رقم اصلاحی اسپرس بودند. در هر بلوک شاهدها به طور تصادفی بین ژنوتیپ‌های

جدول ۱- صفات و نحوه اندازه‌گیری آنها در فامیل‌های موتانت و غیرموتانت اسپرس در نسل سوم موتاسیون

ردیف	صفات	نحوه اندازه گیری صفات
۱	روز تا ۵۰ درصد گلدهی	تعداد روز از کاشت تا زمان گلدهی ۵۰ درصد بوته های هر کرت
۲	تعداد ساقه در واحد سطح	شمارش تعداد ساقه در ۲ متر طولی و تبدیل به واحد سطح در مرحله ۵۰ درصد گلدهی
۳	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	ارتفاع از طوقه تا رأس ساقه اصلی در زمان ۵۰ درصدگلدهی
۴	تعداد ساقه در بوته	شمارش تعداد ساقه گل دهنده در هر بوته در زمان ۵۰ درصد گلدهی
۵	تعدا گره در ساقه	میانگین تعداد گره در سه ساقه از هر بوته در مرحله ۵۰ درصد گلدهی
۶	تعداد شاخه فرعی	میانگین تعداد گل‌آذین در سه ساقه از هر بوته در مرحله ۵۰ درصد گلدهی
۷	طول خوشه (سانتی‌متر)	میانگین طول سه خوشه از هر بوته در مرحله ۵۰ درصد گلدهی
۸	عملکرد علوفه تر (گرم درمتر مربع)	برداشت از ارتفاع ۵ سانتی‌متری سطح زمین در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و وزن کردن با ترازوی دقیق
۹	عملکرد علوفه خشک (گرم در متر مربع)	محاسبه عملکرد علوفه خشک بعد از خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه
۱۰	درصد برگ	وزن برگ و گل های خشک جدا شده از ساقه
۱۱	درصد ساقه	وزن ساقه خشک جدا شده از برگ و گل
۱۲	نسبت برگ به ساقه	نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه
۱۳	درصد ماده خشک	تعیین درصد ماده خشک براساس عملکرد علوفه خشک
۱۴	توان استقرار	بر اساس معیار قطر تاج‌پوش قبل از ساقه‌دهی در سال اول کاشت
۱۵	امتیاز رشد پائیزه	میزان رشد ظاهری در شروع فصل سرما به صورت امتیاز دهی از ۱ (ضعیف‌ترین)تا ۹ (بهترین)
۱۶	امتیاز رشد بهاره	میزان رشد ظاهری در شروع فصل بهار به صورت امتیاز دهی از ۱ (ضعیف‌ترین)تا ۹ (بهترین)
۱۷	دیرزیستی	معیاری از درصد بقاء، شادابی، حفظ بنیه ظاهری و اندازه تاج‌پوش در پایان فصل سرما بر اساس امتیازدهی
۱۸	حساسیت به سفیدک سطحی	بر حسب امتیاز دهی از ۱ (مقاوم) تا ۹ (حساس)

Archive of SID

www.SID.ir

موتانت و غیرموتانت کشت شدند. در هر کرت فاصله بین ردیف‌ها ۴۰ سانتی‌متر و طول هر ردیف ۴ متر و فاصله بین پلات‌ها ۶۰ سانتی‌متر بود. در هر کرت آزمایشی، ۵۰ سانتی‌متر از ابتدا و انتهای ردیف‌ها به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد و مجموعه‌ای از صفات زراعی و مورفولوژیک یادداشت برداری گردید. صفات و نحوه اندازه گیری آنها در ژنوتیپ‌های موتانت و غیرموتانت اسپرس در جدول ۱ آورده شده است.

تجزیه‌های آماری به کمک نرم افزارهای SAS انجام گرفت. با توجه به اینکه سال اول در اسپرس سال استقرار بوده و رشد گیاهان کمتر از سال دوم می‌باشد، بنابراین بدلیل عدم تجانس داده‌های دو سال از ترکیب آنها اجتناب و داده‌های هر سال به طور جداگانه آنالیز گردید. تجزیه آماری یک متغیره شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین، برآورد ضرایب تنوع فنوتیپی و ضریب تنوع درون بود. همچنین از تجزیه کلاستر به روش Ward با استفاده از نرم‌افزار SPSS جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و شناسایی ژنوتیپ‌های متشابه و متفاوت استفاده شد (Johnson, 1998).

نتایج و بحث

برآورد مقادیر واریانس فنوتیپی و ضریب تنوع فنوتیپی فامیل‌های موتانت و غیر موتانت اسپرس در سال اول و دوم برای صفات مورد مطالعه در نسل سوم (M3) در جدول ۲ نشان داده شده است. مقایسه واریانس فنوتیپی ژنوتیپ‌های موتانت و غیرموتانت اسپرس در سال اول برای صفات تعداد شاخه فرعی، طول خوشه، عملکرد علوفه خشک، نسبت برگ به ساقه و توان استقرار معنی‌دار شد و برای سایر صفات اختلاف آماری معنی‌داری دیده نشد. از بین این صفات تنها صفت عملکرد علوفه خشک در غیر موتانت‌ها دارای واریانس فنوتیپی بیشتری بود و برای سایر صفات بیشترین واریانس فنوتیپی در موتانت‌ها دیده شد. در سال دوم برای صفات روز تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد گره در ساقه، تعداد شاخه فرعی، طول خوشه و امتیاز رشد بهاره واریانس فنوتیپی بیشتری در موتانت‌ها نسبت

جدول ۲- برآورد مقادیر واریانس فنوتیپی و ضریب تنوع فنوتیپی فامیل‌های موتانت و غیر موتانت اسپرس در سال اول و دوم برای صفات مختلف

صفات	سال اول				سال دوم			
	واریانس فنوتیپی		ضریب تنوع فنوتیپی (٪)		واریانس فنوتیپی		ضریب تنوع فنوتیپی (٪)	
	موتانت	غیرموتانت	موتانت	غیرموتانت	موتانت	غیرموتانت	موتانت	غیرموتانت
روز تا ۵۰ درصد گلدهی	۴/۶۲^{a}	۷/۵۳^{a}	۴/۳۵	۵/۳۵	۴/۸۸^{a}	۱/۶۷^{b}	۷/۶۴	۴/۸۲
تعداد ساقه واحد سطح	۵۷/۶۵^{a}	۶۹/۱۲^{a}	۲۷/۷۴	۳۰/۱۶	۱۱۵۷^{a}	۸۳۰/۸^{a}	۲۳/۹۱	۱۹/۰۲
ارتفاع بوته	۳۳/۰۸^{a}	۳۸/۰۸^{a}	۹/۷۸	۹/۹۲	۱۲۹/۳^{a}	۱۰۳/۵^{a}	۲۲/۶۸	۱۷/۷۷
تعداد ساقه در بوته	۰/۱۷^{a}	۰/۱۷^{a}	۱۰/۳۴	۱۰/۱۹	۴/۰۷^{a}	۳/۱۵^{a}	۱۸/۴۶	۱۵/۲۶
تعدا گره در ساقه	۰/۱۵^{a}	۰/۰۹^{a}	۸/۲۲^{a}	۶/۴۲^{a}	۰/۰۵^{a}	۰/۰۳^{b}	۴/۷۹	۳/۹۹
تعداد شاخه فرعی	۰/۱۴^{a}	۰/۰۷^{b}	۸/۴۲	۵/۶۲	۰/۱۲^{a}	۰/۰۲^{b}	۸/۷۴	۳/۹۰
طول خوشه	۰/۵۹^{a}	۰/۲۹^{b}	۷/۸۲	۵/۲۵	۰/۶۵^{a}	۰/۳۲^{b}	۹/۸۵	۶/۴۵
عملکرد علوفه تر	۴۹۳۳۲^{a}	۷۳۶۸۱^{a}	۴۱/۷۳	۴۲/۸۹	۲۸۹۹۲۶^{b}	۵۳۶۹۰۷^{a}	۵۸/۳۳	۸۰/۴۹
عملکرد علوفه خشک	۳۵۷۴/۳۶^{b}	۶۳۲۱/۲۲^{a}	۳۶/۷۴	۴۱/۴۳	۴۱۳۰۴^{a}	۶۴۴۸۴^{a}	۵۶/۸۲	۸۴/۱۲
درصد برگ	۰/۰۰۲^{a}	۰/۰۰۲^{a}	۴/۵۲	۴/۵۴	۴/۴۷^{a}	۵/۶۳^{a}	۴/۴۳	۵/۱۲
درصد ساقه	۰/۰۰۲^{a}	۰/۰۰۲^{a}	۳۳/۶۸	۳۲/۱۵	۴/۶۱^{a}	۵/۶۳^{a}	۷۲/۹	۵۶/۰۱
نسبت برگ به ساقه	۶۰/۶۲^{a}	۳۱/۶۹^{b}	۷۳/۵۵	۶۰/۳۱	۹۲/۹^{a}	۶۶/۵۳^{a}	۵۸/۴۹	۶۹/۹۸
درصد ماده خشک	۰/۰۰۳^{a}	۰/۰۰۲^{a}	۱۸/۶۲	۱۵/۷۷	۰/۰۰۵^{b}	۰/۰۲^{a}	۲۰/۴۵	۴۶/۲۱
شاخص عملکرد	۰/۱۴^{a}	۰/۲۳^{a}	۱۷/۸۰	۲۱/۳۶	۱/۵۲^{a}	۱/۴۶^{a}	۳۶/۱۱	۴۰/۰۳
توان استقرار	۱۲/۸۶^{a}	۵/۴۴^{b}	۲۸/۷۵	۴۳/۹۶	۸/۹۲^{a}	۵/۲۴^{b}	۳۴/۳۳	۴۴/۸۲
امتیاز رشد پائیزه	۶/۴۷^{a}	۴/۷۳^{a}	۴۰/۵۴	۴۷/۲۰	۲/۴۵^{a}	۱/۵۱^{a}	۶۵/۴۰	۸۳/۲۵
سفیدک سطحی	۱/۹۶^{a}	۲/۷۲^{a}	۸۰/۲۲	۶۰/۹۲	۴/۴^{a}	۴/۸۶^{a}	۴۸/۳۷	۴۶/۰۸

برای هر پارامتر تفاوت بین موتانت و غیرموتانت که در حروف مشترک هستند در سطح ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

به غیرموتانت‌ها مشاهده گردید (جدول ۲). مقایسه ضریب تنوع فنوتیپی دو جامعه (جدول ۲) در سال اول نشان می‌دهد بیشترین مقدار تنوع بر اساس این شاخص در ژنوتیپ‌های موتانت و غیرموتانت مربوط به صفات نسبت برگ به ساقه و حساسیت به سفیدک سطحی بود. در سال دوم صفات عملکرد علوفه تر و خشک، درصد ساقه، نسبت برگ به ساقه و دیرزیستی در هر دو ژنوتیپ موتانت و غیرموتانت دارای بیشترین ضریب تنوع فنوتیپی بودند. در این سال اختلاف ضریب تنوع فنوتیپی دو جامعه برای صفت درصد ماده خشک قابل ملاحظه بود، به نحوی که ژنوتیپ‌های غیرموتانت برای این صفت بیشترین ضریب تنوع فنوتیپی را داشتند (جدول ۲). با توجه به نتایج می‌توان گفت در هر دو سال به جز برای صفت درصد ماده خشک برای سایر صفات، دو جامعه بر مبنای ضریب تنوع فنوتیپی، دامنه تنوع یکسانی نشان دادند. محاسبه مقادیرضرایب تنوع درون ژنوتیپی (نتایج نشان داده نشده است) برای صفاتی چون ارتفاع بوته، تعداد ساقه در بوته، تعداد شاخه فرعی، طول خوشه و تعداد گره در ساقه در هر دو جامعه نشان داد که مقدار تنوع درون ژنوتیپ‌ها بسیار کوچک بود. این نتایج نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های انتخاب شده از یکنواختی و خلوص بیشتری نسبت به جامعه اولیه برخوردار بودند.

مقایسه میانگین بین دو جامعه نشان داد که از نظر اکثر صفات ژنوتیپ‌های موتانت بهتر از غیرموتانت‌ها بودند که برای صفات مهم این نتایج به تفکیک دو سال در شکل ۱ مشخص شده است. ژنوتیپ‌های موتانت در سال دوم پس از استقرار کامل توانستند میانگین بیشتری را برای صفت عملکرد علوفه خشک به خود اختصاص دهند (شکل۱-الف). همچنین ژنوتیپ‌های موتانت از نظر صفت نسبت برگ به ساقه، که شاخصی برای تعیین کیفیت علوفه است، در هر دو سال بیشترین میانگین را به خود اختصاص دادند (شکل۱-ب). بنابراین ژنوتیپ‌های موتانت به دلیل داشتن بیشترین میانگین برای عملکرد علوفه خشک و نسبت برگ به ساقه از پتانسیل بیشتری برای استفاده در نسل‌های بعد برخوردار می‌باشند. در سال دوم ژنوتپ‌های موتانت از نظر صفت درصد ساقه کمترین میانگین را دارا بودند (شکل ۱-ج) بنابراین با کاهش درصد ساقه، نسبت برگ به ساقه افزایش یافته و در سال دوم ژنوتیپ‌های موتانتی با عملکرد و کیفیت بیشتر حاصل شده است. از نظر صفت حساسیت به سفیدک سطحی تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های دو جامعه موتانت و غیرموتانت دیده نشد (شکل ۱- د). به نظر می‌رسد که موتاژن EMS نتوانسته باشد باعث القای ژن(های) مقاومت به این بیماری در اسپرس شده باشد. از طرفی این احتمال نیز وجود دارد که به دلیل تتراپلوئید بودن اسپرس، این صفت خود را در نسل‌های بعد نشان دهد، بنابراین پیشنهاد می‌گردد پس از ارزیابی نسل بعد در صورت عدم حصول موتانت مورد نظر، اثر سایر موتاژن‌ها در این زمینه مورد مطالعه قرار گیرد.

در بررسی تنوع ژنتیکی در شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) تحت القای EMS در نسل چهار موتاسیون، فامیل‌های موتانت برای صفات ارتفاع، عملکرد ماده خشک، عملکرد بذر و وزن هزار دانه تفاوت معنی‌داری نسبت به فامیل‌های شاهد نشان دادند به گونه‌ای که در فامیل‌های موتانت نسبت به شاهد، برای صفات ارتفاع و عملکرد ماده خشک کاهش و برای عملکرد بذر و وزن هزاردانه افزایش دیده شد (Basu et al., 2008) Rybinski et al. (2006) نیز در بررسی موتانت‌های خلر (*Lathyrus sativus*) کاهش تمام صفات مورد مطالعه در برابر غیرموتانت‌ها را گزارش کردند. در مطالعه صفات مورفولوژیک گیاه دارویی درمنه (*Artemisia pallens*) تحت شرایط اشعه گاما و EMS، برتری ارقام موتانت نسبت به غیرموتانت در هر دو شرایط دیده شد، به طوری که در هر دو شرایط فامیل‌هایی با ارتفاع و عملکرد بیشتر، بلوغ زودتر، گلدهی زودتر و میزان روغن بیشتر شناسایی شدند (Rekha & Langer, 2007).

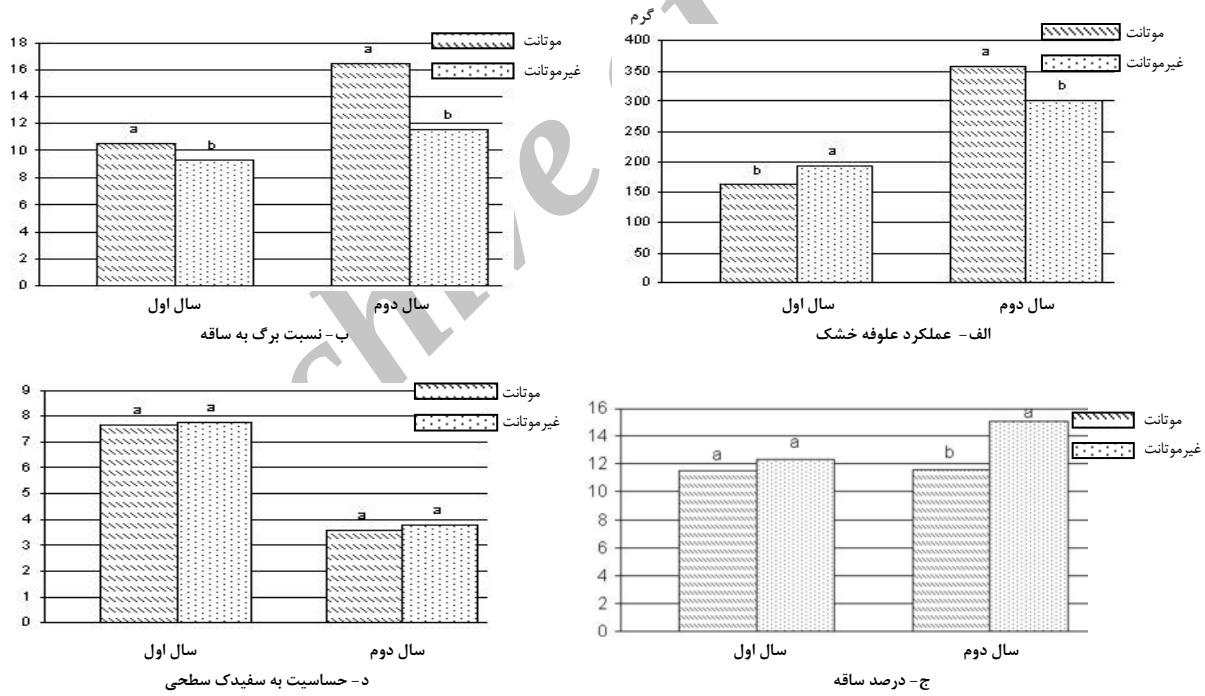
به منظور تعیین قرابت ژنوتیپ‌های مختلف و گروه‌بندی آنها در ارتباط با صفات مختلف از تجزیه کلاستر استفاده شد. نمودار حاصل از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های غیرموتانت و موتانت در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. همچنین به منظور درک بهتر از ویژگیهای خاص هر گروه، مقایسه میانگین گروه‌ها به تفکیک هر صفت برای ژنوتیپ‌ها انجام شد که نتایج آن

Archive of SID

www.SID.ir

در جدول‌های ۳ و ۴ آورده شده است. بر اساس نمودار خوشه‌ای (شکل ۲) ۴۰ ژنوتیپ موتانت در فاصله اقلیدسی حدود ۱۳ به سه کلاستر (گروه) جداگانه تقسیم گردیدند. کلاستر اول با ۷ ژنوتیپ کوچک‌ترین گروه این کلاستر بود. این ژنوتیپ‌ها در سال اول تنها تا مرحله رشد روزت پیش رفته و وارد مرحله ساقه دهی نشدند و ساقه‌دهی و گلدهی آنها در سال دوم پس از زمستان‌گذرانی انجام شد. بنابراین به نظر می‌رسد موتاسیون نیاز به بهاره‌سازی را در این ژنوتیپ‌ها ایجاد کرده است. در ضمن ژنوتیپ‌های این گروه کمترین میانگین را برای صفت حساسیت به سفیدک سطحی به خود اختصاص دادند (جدول ۳) بنابراین ژنوتیپ‌های این گروه علیرغم نیاز به بهاره‌سازی در سال اول می‌توانند ژنوتیپ‌های مناسبی از نظر آلودگی کمتر نسبت به سفیدک سطحی باشند. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌هایی بود که از نظر صفات تعداد ساقه در واحد سطح و تعداد ساقه در بوته کمترین میانگین را به خود اختصاص داده است. ژنوتیپ‌های گروه سوم نیز برای صفت عملکرد علوفه تر و خشک بیشترین میانگین را دارا بودند (جدول۳). بنابراین ژنوتیپ‌های این گروه را می‌توان برای دست یافتن به عملکرد علوفه بیشتر مورد استفاده قرار داد. Kumar & Dubey (2003) نیز توانستند در بررسی تنوع ژنتیکی موتانت‌های *Lathyrus sativus* از طریق تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های برتر از لحاظ صفات مثل زودرسی، ارتفاع و عملکرد را شناسایی کنند.

نتایج گروه‌بندی برای جامعه غیرموتانت (شکل۳) نشان داد که ۳۹ فامیل غیرموتانت اسپرس در فاصله اقلیدسی نزدیک به ۱۳، به سه گروه تقسیم شدند. گروه



شکل ۱- مقایسه میانگین صفات مهم به تفکیک دو سال در ژنوتیپ‌های موتانت و غیرموتانت اسپرس

جدول ۳- میانگین صفات در هر یک از گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای در ژنوتیپ‌های موتانت اسپرس*

گروه	۵۰ درصد گلدهی	ساقه در واحد سطح	ارتفاع بوته (cm)	عملکرد علوفه خشک (gr)	نسبت برگ به ساقه	درصد ماده خشک	حساسیت به سفیدک سطحی	توان استقرار
گروه اول	۲۹/۹۳^{c}	۱۲۱/۳۲^{a}	۳۷/۹۶^{c}	۱۳۷/۴۷ ^{b}	۲۱/۰۸^{a}	۰/۲۵^{b}	۲/۲۸^{c}	۱۲/۱۴ ^{b}
گروه دوم	۴۰/ ۳۸^{a}	۷۲/۲۲^{c}	۴۸/۳۱^{b}	۱۹۳/۰۱ ^{b}	۲۰/۳۵^{a}	۰/۳۳^{a}	۴/۴۲^{b}	۲۷/۱۱^{a}
گروه سوم	۳۸/۱۸^{b}	۹۶/۶۵^{b}	۶۰/۵۷^{a}	۳۴۲/۳۶ ^{a}	۸/۲۸^{b}	۰/۳۴^{a}	۶/۶۷^{a}	۲۷/۲۸^{a}
میانگین	۳۷/۴۵	۹۳/۰۳	۵۲/۶۳	۲۵۷/۹۷	۱۴/۴۵	۰/۳۲	۵/۱۷	۲۴/۵۸

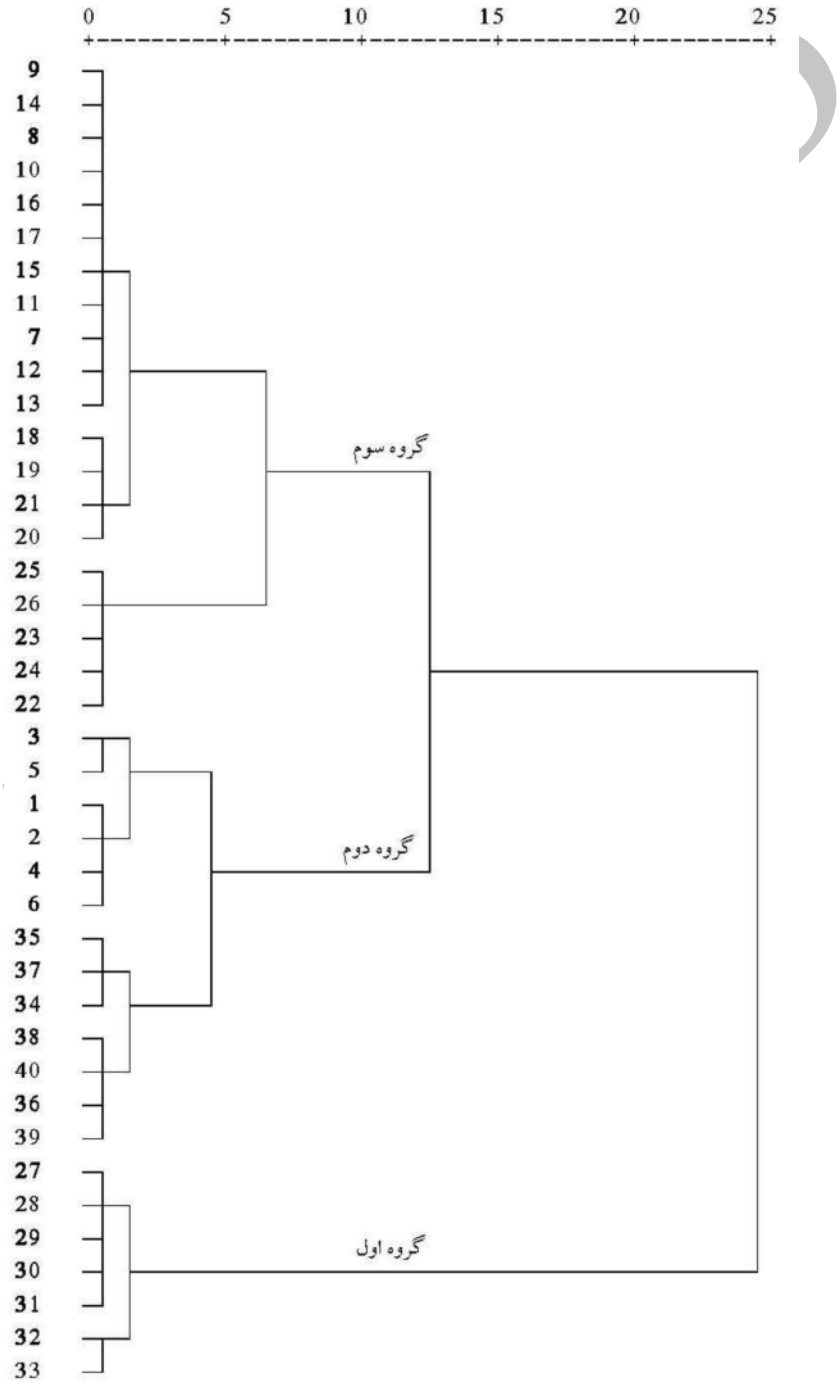
* برای هر صفت تفاوت بین گروه‌ها که دارای حروف مشترک هستند در سطح ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

www.SID.ir

جدول ۴- میانگین صفات در هر یک از گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای در ژنوتیپ‌های غیرموتانت اسپرس*

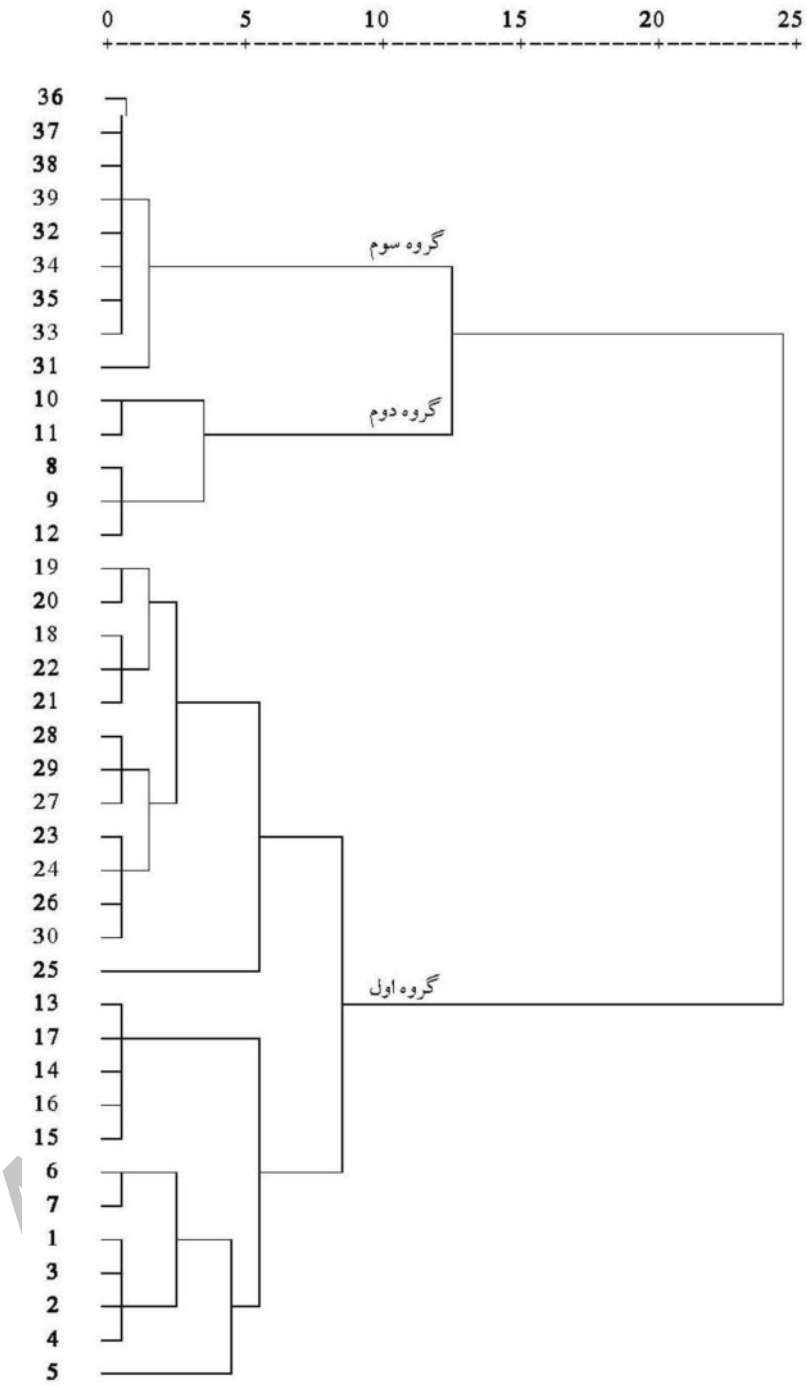
گروه	۵۰ درصد گلدهی	ساقه در واحدسطح	ارتفاع بوته (cm)	عملکرد علوفه خشک (gr)	نسبت برگ به ساقه	درصد ماده خشک	حساسیت به سفیدک سطحی	توان استقرار
گروه اول	۳۹/۳۳^{a}	۸۶/۳۱^{b}	۵۵/۰۱^{c}	۱۸۸/۴۷^{b}	۱۳/۱۷^{a}	۰/۳۱^{a}	۴/۹۲^{b}	۲۷/۷۸^{a}
گروه دوم	۳۸/۹۱^{a}	۸۶/۲۶^{b}	۶۵/۰۲^{b}	۵۵۲/۸۱^{a}	۵/۳۶^{b}	۰/۳۴^{a}	۸^{a}	۲۸/۸۵^{a}
گروه سوم	۳۸/۳۴^{a}	۱۰۰/۳۵^{a}	۶۹/۷۲^{a}	۲۳۹/۱۵^{b}	۵/۸۸^{b}	۰/۳۴^{a}	۶/۸۳^{a}	۲۸/۸۳^{a}
میانگین	۳۹/۰۵	۸۹/۵۵	۵۹/۶۹	۲۴۶/۸۷	۱۰/۴۹	۰/۳۴	۵/۷۵	۲۸/۱۶

* برای هر صفت تفاوت بین گروه‌ها که در حروف مشترک هستند در سطح ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند.



شکل ۲- نمودار خوشه‌ای ۴۰ فامیل موتانت اسپرس بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک و زراعی

www.SID.ir



شکل ۳- نمودار خوشه‌ای ۳۹ فامیل غیرموتانت اسپرس بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک و زراعی

اول به عنوان بزرگترین گروه ۲۵ فامیل را در خود جای داد. فامیل‌های این گروه دارای حداکثر میانگین برای درصد برگ و نسبت برگ به ساقه بودند (جدول ۴). بنابراین ژنوتیپ‌های این گروه ضمن داشتن آلودگی کمتر نسبت به سفیدک سطحی بیشترین کیفیت علوفه را دارا بودند. گروه دوم با ۵ ژنوتیپ کوچک‌ترین گروه بود. در این گروه ژنوتیپ‌ها از نظر صفات عملکرد علوفه خشک و عملکرد علوفه‌تر حداکثر مقادیر را دارا بودند و از نظر صفت تعداد شاخه فرعی حداقل میانگین را در بین گروه‌ها به خود اختصاص دادند. درگروه سوم تعداد ۷ ژنوتیپ قرار گرفتند که حداکثر میانگین را برای صفات تعداد ساقه در واحد سطح، تعداد ساقه در بوته، ارتفاع بوته و تعداد گره در ساقه دارا بودند. در مجموع نتایج تجزیه کلاستر نیز تفاوت میزان تنوع و گوناگونی

www.SID.ir

بین فامیل‌های موتانت و غیرموتانت را تأیید نمود. با توجه به اینکه ایجاد ارقام ساختگی مطلوب نیازمند انتخاب والدین متنوع و مناسب می‌باشد، می‌توان از تجزیه کلاستر برای تعیین ژنوتیپ‌هایی که از نظر فاصله ژنتیکی بهترین موقعیت را داشته باشند استفاده کرد (Kolliker et al., 2005) به طوری که در هر جامعه می‌توان به طور مستقل نسبت به گزینش ژنوتیپ‌های مناسب جهت مطالعات اصلاحی تکمیلی و ایجاد واریته‌های ترکیبی اقدام کرد.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در کل ژرم‌پلاسم مورد مطالعه وجود دارد. القای موتاسیون توانست سبب بروز تنوعاتی در برخی صفات گردد. با توجه به اینکه اسپرس یک گیاه تتراپلوییید است بررسی‌های تکمیلی در نسل‌های بعدی برای یافتن موتانت‌های مغلوب ضروری است. از طرفی اینکه آیا این تنوع در نسل‌های بعدی پایداری کافی را دارد و چه بخشی از این تنوع به عوامل ژنتیکی و چه بخشی از آن مربوط به فاکتورهای محیطی می‌باشد، نیازمند مطالعات بیشتر است تا بتوان از آن برای گزینش ژنوتیپ‌های مناسب در پروژه‌های به‌نژادی اسپرس استفاده کرد.

REFERENCES

1. Abou-El-Enain, M. M. (2002). Chromosomal criteria and their phylogenetic implications in the genus Onobrychis Mill. sect. Lophobrychis (Leguminosae), with special reference to Egyptian species. *Bot J Linn Soc*, 139, 409-414.
2. Acharya, S. N., Thomas, J. E. & Basu, S. K. (2007). Improvement in the medicinal and nutritional properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). In: Acharya, S. N. and Thomas. J. E. (Eds), *Advances in medicinal plant research*. Research Signpost. Trivandrum. Kerala. India.
3. Agrawal, R. L. (2000). *Fundamentals of plant breeding and hybrid seed production*. Oxford & IBH Publishing Co. PVT. Ltd.
4. Basu, S. K. (2008). Genetic improvement of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) through EMS induced mutation breeding for higher seed yield under western Canada prairie conditions. *Euphytica*, 60, 249-258.
5. Delgado, I., Salvia, J., Buil, I. & Andres, C. (2008). The agronomic variability of a collection of sainfoin accessions. *Spanish J Agric Res*, 3, 401-407.
6. Fairy, N. A. & Lefkovitch L. P. (1990). Herbage production conventional mixtures Vs. Altenating strips of grass and legume. *Agron J*, 82, 737-744.
7. Fehr, W. R. (1987). *Principles of cultivar development*. Macmillan Publishing Company, Newyork.
8. Halluar, A. R. & Miranda, J. B. (1981). *Quantitative genetics in maize breeding*. Iowa State University Press, Ames. Iowa.
9. Hayward, M. D., Bosemark, N. O. & Romagosa, I. (1993). *Plant breeding*. Chapman & Hall.
10. International Atomic Energy Agency. (1977). *Manual on mutation breeding*. Technical Report Seriese. No 119.
11. Johnson, D. E. (1998). *Applied multivariate methods for data analysis*. Donbury Press. New York. USA.
12. Kasper, M. J. (1990). *Biotechnology in tall fescue improvement*. CRC Press, Broca, Raton.
13. Kharkwal, M. C. (1998). Induced mutation in chicpea (*Cicer arietinum*) I. Comparative mutagenic effectiveness and efficiency of physical and chemical mutagens. *Indian J Genet*, 58, 159-167.
14. Kolliker R., Boller, B. & Widmer, F. (2005). Marker assisted polycross breeding to increase diversity and yield in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica*, 146, 55-65 .
15. Kumar, S. & Dubey, D. K. (2003). Genetic diversity among induced mutants of grasspea (*Lathyrus sativus* L.). *Lathyrus Lathyrism Newslett*, 3, 15-17.
16. Majidi, M. M. & Arzani, A. (2004). Study of induced mutation via Ethyl Methan Sulfonat (EMS) in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). *J Agric Sci Tech*, 18(2), 167-180. (In Farsi)
17. Miller, D. A. (1984). Other legumes. In: *Forage crops*. University of Illinois, McGraw-Hill, Inc. pp. 351-367.
18. Naderi Shahab, M. A., Mehrpor, S. H., Jebelly, M. & Jafari, A. A. (2007). Mutagenesis effects of EMS and UV-C eradiation doses on *Medicago sativa* L. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 15, 183-195. (In Farsi)
19. Penmetsa, R.V. & Cook, D. R. (2000). Production and characterization of divers developmental mutants of *Medicago truncatula*. *Plant Physiol*, 123, 1387-1398.
20. Rekha, K. & Langer, A. (2007). Induction and assessment of morpho-biochemical mutants in *Artemisia*

Archive of SID

www.SID.ir

pallens Bess. *Genet Resou Crop Evol*, 54, 437-443.
21. Rybinski, W., Blaszczak, W. & Fornal, J. (2006). Seed microstructure and genetic variation of characters in selected grass-pea mutanys (*Lathyrus sativus* L.). *Int Agrophysics*, 20, 317-326.
22. Shigaki, T., Gray, F. A., Delaney, R. H. & Koch, D. W. (1998). Evaluation of host resistance for management of the northern root-Knot nematode in sainfoin, *Onobrychis viciifolia*. *J Sustain Agric*, 12, 23-39.
23. Soares, M. I. M., Kakhimov, S. & Shakirov, Z. (2000). *Productivity of the Desert Legume" Onobrychis"*. Dryland Biotechnology. Vol.6.

Archive of SID

www.SID.ir