

تنوع ژنتیکی نخود زراعی تیپ کابلی (*Cicer arietinum* L.) ایران بر اساس صفات زراعی و نشانگر RAPD

Genetic Variation in Iranian Chickpea (*Cicer arietinum* L. Kabuli Type) Based on Agronomic Traits and RAPD Marker

فرزانه فاضلی^۱ و کیانوش چقامیرزا^۲

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۴/۳۰

چکیده

فاضلی، ف. و چقامیرزا، ک. ۱۳۹۰ تنوع ژنتیکی نخود زراعی تیپ کابلی (*Cicer arietinum* L.) ایران بر اساس صفات زراعی و نشانگر RAPD. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۷: ۵۷۹-۵۵۵.

در مطالعه حاضر ۱۰۵ توده نخود کابلی دریافت شده از بانک ژن گیاهی ملی ایران به همراه پنج رقم شاهد (آرمان، جم، هاشم، بیونج و ILC-482) در قالب طرح آگمنت در سال‌های زراعی ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه کاشته شدند. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که عملکرد بوته، تعداد شاخه‌های اولیه و شاخص برداشت به ترتیب با ۲۲/۸۹، ۲۲/۲ و ۱۹/۴۹ درصد بیشترین تغییرات ژنتیکی در بین توده‌های نخود را داشتند. عملکرد دانه با صفات شاخص برداشت و عرض کانویی همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. نتایج تجزیه به عامل‌ها به روش حداکثر درست‌نمایی نیز شش عامل پنهانی را شناسایی کرد که جمعاً ۷۵/۸۲ درصد از کل تنوع داده‌ها را توجیه کردند. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌ها و ارقام شاهد با استفاده از ۲۶ آغازگر تصادفی RAPD الگوی بانندی DNA تکثیر شد که از تعداد ۵۶۴ قطعه‌ای که در کل توده‌ها و ارقام تولید شد ۳۲۱ قطعه چندشکل بودند. تعداد باندهای چندشکل از ۱۵ تا ۲۸ به ازای هر آغازگر متفاوت بودند و اطلاع‌بخش‌ترین مکان ژنی مربوط به آغازگر D₁₂ بود. مقادیر PIC بین ۰/۰۹ تا ۰/۶۶ و شاخص نشانگر بین ۵/۲۶ تا ۴۱/۲۷ در هر آغازگر بود. توده‌های شماره ۸۶ و ۸۵ بیشترین تشابه (۹۷٪) و توده شماره ۲۰ و رقم ILC-482 کمترین تشابه (۶۸٪) را داشتند. تجزیه خوشه‌ای توده‌ها و ارقام را در ده گروه مجزا گروه‌بندی کرد. تعدادی از زیر گروه‌های درون خوشه‌های اصلی با مقادیر بالای بوت‌استرپ تأیید شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگر مولکولی RAPD قادر است چندشکلی نسبتاً قابل قبولی را نمایان سازند و تنوع ژنتیکی موجود در توده‌ها می‌تواند برای افزایش پایه ژنتیکی برنامه‌های به‌نژادی نخود مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: نخود، تنوع ژنتیکی، صفات زراعی، تجزیه به عامل‌ها، نشانگر مولکولی RAPD.

مقدمه

یکی از مهم‌ترین جنبه‌ها در ایران کشت می‌شود و در تغذیه مردم ایران مصرف زیادی دارد، نخود زراعی است. عملکرد نخود در ایران با توجه به شرایط محیطی و عدم دسترسی به آب کافی و ژنوتیپ پائین است و کارهای به‌نژادی اندکی هم روی آن انجام شده است (Soltani *et al.*, 1999). از آنجایی که فاکتورهای محیطی و ژنوتیپی اجزاء اصلی تعیین‌کننده عملکرد و کیفیت در گیاهان هستند، هدف اصلی در انتخاب معیارهای اصلاحی، باید بیشتر روی اثر فاکتورهای ژنوتیپی متمرکز شود (Ciftci *et al.*, 2004). از این رو عمده تلاش متخصصین اصلاح نباتات معطوف به کشف راه‌های چگونگی افزایش پتانسیل ژنتیکی در عملکرد نخود شده است (Singh *et al.*, 2007). یک به‌نژادگر در صورتی شانس موفقیت در برنامه‌های اصلاحی خواهد داشت که امکان انتخاب مواد مناسب و تنوع کافی را در اختیار داشته باشد (Salehi Jozani *et al.*, 2003). به منظور تخمین این تنوع انواع مختلفی از سیستم‌های نشانگری توسط به‌نژادگران گیاهی استفاده می‌شوند (Ray chadhury *et al.*, 2007) که از جمله آن‌ها می‌توان به نشانگرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی اشاره کرد. مردی و همکاران (Mardi *et al.*, 2003) در مطالعه‌ای به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و

شناسایی اجزاء عملکرد ۴۱۸ رقم نخود تیپ دسی با اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی نشان دادند که وزن بذر با غلاف و تعداد بذر در بوته از تنوع خوبی برخوردارند و مناسب‌ترین و منطقی‌ترین نسبت بین اجزاء که منتهی به عملکرد بیشتر می‌شد را انتخاب کردند. در مطالعه‌ای که به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین عملکرد و اجزاء عملکرد ۱۵ ژنوتیپ نخود تیپ کابلی توسط یوسل و همکاران (Yucel *et al.*, 2006) از نظر صفات زراعی انجام شد، نتایج نشان داد که صفات مطلوب زراعی سهم عمده‌ای در عملکرد دانه در نخود دارند و از این رو می‌توانند موفقیت مطالعات به‌نژادی نخود را افزایش دهند. در مطالعه دیگری که روی ۱۰۴ توده و رقم نخود تیپ کابلی انجام شد، نتایج نشان داد که توده‌ها و ارقام مورد بررسی از نظر صفات زراعی از تنوع بالایی برخوردار هستند (Cheghamirza, 2007).

اگر چه نشانگرهای مورفولوژیکی به طور سنتی در علوم زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند ولی دارای محدودیت‌های اساسی هستند که موجبات توجه محققین این علوم به انواع دیگر نشانگرهای ژنتیکی را فراهم آورده است (Ghareyazi, 1996) از جمله نشانگرهایی که تا کنون به کار گرفته شده‌اند می‌توان به ایزوزایم‌ها، AFLPs، RAPD، RFLPs و میکروساتلیت اشاره کرد. روش الکتروفورز پروتئین‌های بذری (Ladizinsky and Adler, 1975)؛

تنوع ژنتیکی در بسیاری از گونه‌های زراعی مثل برنج، گندم، ذرت، جو، نخود و نخود فرنگی است (Ray chadhury *et al.*, 2007). ایرولا و همکاران (Iruela *et al.*, 2002) در مطالعه‌ای نشانگرهای RAPD را برای تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک ۷۵ نژاد متعلق به ۱۴ گونه از جنس Cicer به کار بردند. نتایج نشان دادند که نشانگرهای RAPD به عنوان ابزار مفیدی در تشخیص تنوع ژنتیکی بین گونه‌های نخود هستند. همچنین روش RAPD برای مطالعه روابط ژنتیکی ۹ گونه یک ساله Cicer (Ahmad, 1999; Sudapak, 2002) استفاده شده است، که ثابت کرده نشانگرهای RAPD می‌توانند ابزار مفیدی برای مطالعات روابط ژنتیکی درون گونه‌های Cicer باشند. رائو و همکاران (Roa *et al.*, 2007) در مطالعه‌ای به منظور آشکارسازی روابط ژنتیکی بین ۱۹ رقم نخود زراعی و ۵ نژاد وحشی، از نشانگرهای RAPD و ISSR استفاده کردند. نتایج این مطالعه توانایی دو نشانگر RAPD و ISSR را در آشکارسازی چندشکلی بین ارقام نخود زراعی و نژادهای وحشی آن تأیید و اثبات کرد. بنابراین نشانگرهای RAPD، توانایی وسیعی برای کاربرد در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام دارد (Salehi Jozani *et al.*, 2003).

با توجه به این که بیشتر برنامه‌های به‌نژادی قبلی در اکثر مراکز تحقیقاتی ایران بر پایه خصوصیات مورفولوژیکی انجام شده است و همچنین با توجه به اهمیت نخود زراعی در

Vairinhos and Murray, 1983؛ Ahmad and Slinkard, 1992) و روش ایزوزایم (Kazan and Muehlbauer, 1991؛ Tayyar and Waines, 1996؛ Ahmad *et al.*, 1992؛ Labdi *et al.*, 1996) برای تعیین روابط ژنتیکی بین گونه‌های Cicer استفاده شده است. علاوه بر این بارانگر و همکاران (Baranger *et al.*, 2004) روش‌های مختلف سیستم‌های نشانگری (ایزوزایم، ISSR، RAPD) در تشخیص تنوع ژنتیکی در نخود فرنگی را با هم مقایسه کردند. نتایج به دست آمده از RAPD کاملاً امیدبخش بود. به طوری که بیشترین میانگین فراوانی آللی برای RAPD به دست آمد و تنوع ژنتیکی آشکار شده به تنهایی توسط روش RAPD، خیلی نزدیک به آن نتیجه‌ای بود که توسط همه سیستم‌های نشانگری به دست آمده بود. هر چند با توجه به توسعه روش‌های الکتروفورزی دو بعدی و پروتئومیکس انتظار می‌رود رویکرد جدیدی در ارزیابی تنوع پروتئینی نمونه‌های مختلف به وجود آید ولی با این حال از نشانگرهای DNA به طور گسترده‌ای برای بررسی تنوع در جمعیت‌های گیاهی استفاده می‌شود (Ghareyazi, 1996). سعید و همکاران (Saeed *et al.*, 2011) در مطالعه‌ای برای بررسی تنوع ژنتیکی ۴۴ ژنوتیپ نخود زراعی ایرانی از ۱۹ نشانگر SSR استفاده و سطح قابل قبولی از تنوع ژنتیکی را گزارش کردند. مشخص شده که RAPD یک ابزار مؤثر و کارا به منظور ارزیابی و آشکارسازی

بلوک‌ها کاشته شدند. به دلیل از دست رفتن ۹ توده (شماره‌های ۳، ۴، ۵، ۲۴، ۲۷، ۳۶، ۴۹، ۵۳ و ۶۱) در مزرعه، آزمایش با استفاده از ۱۰۱ توده و رقم باقی‌مانده انجام شد. نمونه برداری‌ها به صورت تصادفی و روی ۳-۵ بوته از هر ژنوتیپ (بر حسب تعداد بوته‌های موجود از هر ژنوتیپ) انجام شد.

در این آزمایش از داده‌های جمع‌آوری شده در دو سال برای پانزده صفت مورد اندازه‌گیری میانگین گرفته شد. تصحیح داده‌ها تنها در مورد صفاتی انجام شد که در تجزیه واریانس آن‌ها اثر بلوک معنی‌دار بود و پس از اعمال ضرایب تصحیح، کلیه تجزیه‌های آماری بعدی روی داده‌های تصحیح شده انجام شد. البته در مورد صفاتی که داده‌ها دارای توزیع نرمال نبودند از تبدیل مناسب داده‌ها استفاده شد. مقایسه میانگین توده‌ها با میانگین شاهد‌ها به روش LSD انجام شد.

به منظور تجزیه واریانس، تجزیه خوشه‌ای به روش Ward، محاسبه ضرایب همبستگی و تجزیه عامل‌ها از نرم‌افزارهای SPSS و MSTATC استفاده شد.

به منظور ارزیابی تنوع مولکولی ۹۹ توده (به غیر از توده‌های شماره ۳، ۴، ۲۷، ۴۱، ۴۹ و ۵۳) و پنج رقم نخود از برگ‌های تازه روئیده و جوان با استفاده از روش تغییر یافته CTAB (Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide) DNA استخراج شد (Saghai Maroof et al., 1984). بر اساس نتایج روش اسپکتروفتومتری DNA نمونه‌ها تا

استان کرمانشاه، تحقیقات روی جنبه‌های مختلف رشد و تولید این گیاه در استان مذکور می‌تواند در افزایش تولید آن در کشور مؤثر واقع شود. این تحقیق به منظور ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی موجود در هسته مرکزی توده‌ها و ارقام نخود زراعی تیپ کابلی ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD و خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فنولوژیک و در نهایت مقایسه نتایج حاصل از روش‌های فوق انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این بررسی ۱۰۵ توده نخود تیپ کابلی دریافت شده از بانک ژن گیاهی ملی ایران در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به همراه پنج رقم شاهد (آرمان، جم، هاشم، بیونج و ILC-482) در قالب طرح مقدماتی آگمنت در سال‌های زراعی ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه کاشته شدند. ارتفاع محل آزمایش از سطح دریا ۱۳۵۱ متر است که در ۴۶ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ۳۴ درجه و ۲۰ دقیقه عرض شمالی قرار گرفته است. ژنوتیپ‌ها در چهار بلوک و هر کدام در یک تکرار کاشته شدند. در هر بلوک حدود ۲۶ ژنوتیپ هر کدام در سه ردیف به فاصله ۵۰ سانتی‌متر بین ردیف‌ها و ۱۰ سانتی‌متر روی ردیف‌ها به طول ۲ متر کشت شد. پنج رقم شاهد به منظور بررسی تأثیر بلوک و تصحیح مقادیر صفات، به طور تصادفی در کلیه

نشانگرها و آغازگرها از پارامتر (Polymorphic Information Content) PIC استفاده شد. میانگین محتوای اطلاعات نشانگر RAPD بر اساس رابطه پاول (Pawell *et al.*, 1996) محاسبه شد: $PIC=1-\sum f_i^2$ ، در این رابطه f_i برابر با فراوانی آلل i است. روش بوت استرپ (Bootstrap) برای تخمین آماری حمایت شاخه‌های داخلی دندروگرام‌های حاصله از گروه‌بندی توده‌ها و ارقام، بر اساس ضریب تشابه جاکارد به روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار TREECON ver. 1.3 انجام شد. تعداد مطلوب کلاسترها و بهترین نقطه برش برای داده‌های مولکولی، با استفاده از روش ارائه شده توسط ملچینگر (Melchinger, 1993) بر اساس تجزیه واریانس داخل و بین گروه‌ها و محاسبه شاخص F رایت، به کمک نرم‌افزار آماری SAS 8.0 تعیین شد.

نتایج و بحث

مشخصات توده‌های نخود مورد بررسی در جدول ۱ و صفات زراعی اندازه‌گیری شده برای ارزیابی تنوع ژنتیکی آن‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای هر یک از صفات اندازه‌گیری شده در ارقام مورد بررسی نشان داد که از نظر صفات تعداد دانه در غلاف، ارتفاع اولین غلاف از سطح زمین، ارتفاع بوته، وزن ۱۰۰ دانه، عملکرد بوته، تاریخ ۵۰٪ گل‌دهی، تاریخ ۵۰٪ غلاف‌دهی

غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق و جهت انجام واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفتند. تعداد ۲۶ آغازگر تصادفی برای انجام آنالیز RAPD مورد استفاده قرار گرفتند. برای انجام واکنش‌های تکثیر ۲۵ میکرولیتری RAPD از بافر PCR 10X (۲/۵μl)، DNA (۱۶ng)، کلرید منیزیم (۳/۲mM)، آغازگر (۱μM)، dNTP (۰/۲ mM) و آنزیم Taq پلی‌مرز (۱unit) استفاده شد. تکثیر در ترموسایکلر گرادیان مدل کوربیت انجام شد. تولیدات تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۱/۲٪ و در بافر TAE 50X، تحت ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۱۲۰ دقیقه الکتروفورز شدند. از یک سایز مارکر (DNA با وزن مولکولی 1kbp) و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید ۰/۵ میکروگرم در میکرولیتر، به مدت ۳۰ دقیقه برای تشخیص و مشاهده باندها استفاده شد. عکس‌برداری از ژل‌ها به کمک دستگاه فیلم‌برداری با سیستم UVP انجام شد.

بعد از انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با آغازگر RAPD حضور و عدم حضور هر باند خاص با اعداد ۰ و ۱ برای همه توده‌ها و ارقام مشخص شد و ماتریس داده‌های خام به دست آمد. این ماتریس برای به دست آوردن تشابه ژنتیکی (با استفاده از شاخص جاکارد)، رسم دندروگرام و تجزیه مؤلفه‌های متعادل (Principal Coordinate Analysis) با استفاده از نرم‌افزار NTSYS_{pc} 2.02 و آزمون منتل با استفاده از نرم‌افزار XLSTAT استفاده شد. برای بررسی محتوای اطلاعاتی چندشکلی

جدول ۱- شماره، کد و محل جمع آوری توده‌های نخود تیپ کابلی

Table 1. Number, code and collection site of chickpea accessions

شماره No.	کد بانک ژن Gene bank code	محل جمع آوری Collection site	شماره No.	کد بانک ژن Gene bank code	محل جمع آوری Collection site	شماره No.	کد بانک ژن Gene bank code	محل جمع آوری Collection site	شماره No.	کد بانک ژن Gene bank code	محل جمع آوری Collection site
1	215002	Markazi	38	215563	Unknown	75	216063	Unknown	76	216066	Unknown
2	215004	Markazi	39	215567	Unknown	76	216066	Unknown	77	216084	Azarbajejan East
3	215039	Markazi	40	215611	Unknown	77	216084	Azarbajejan East	78	216107	Unknown
4	215040	Markazi	41	215618	Unknown	78	216107	Unknown	79	216118	Unknown
5	215047	Unknown	42	215620	Unknown	79	216118	Unknown	80	216124	Unknown
6	215052	Unknown	43	215626	Unknown	80	216124	Unknown	81	216142	Unknown
7	215056	Unknown	44	215634	Unknown	81	216142	Unknown	82	216147	Unknown
8	215079	Mazandaran	45	215654	Unknown	82	216147	Unknown	83	216149	Unknown
9	215161	Unknown	46	215664	Unknown	83	216149	Unknown	84	216155	Unknown
10	215170	Unknown	47	215671	Unknown	84	216155	Unknown	85	216167	Unknown
11	215171	Unknown	48	215685	Unknown	85	216167	Unknown	86	216185	Unknown
12	215223	Unknown	49	215686	Unknown	86	216185	Unknown	87	216189	Unknown
13	215256	Unknown	50	215690	Unknown	87	216189	Unknown	88	216193	Tehran
14	215259	Unknown	51	215701	Unknown	88	216193	Tehran	89	216194	Unknown
15	215265	Unknown	52	215743	Unknown	89	216194	Unknown	90	216195	Esfahan
16	215279	Unknown	53	215745	Unknown	90	216195	Esfahan	91	216214	Unknown
17	215280	Unknown	54	215754	Unknown	91	216214	Unknown	92	216223	Kermanshah
18	215295	Unknown	55	215767	Unknown	92	216223	Kermanshah	93	216228	Azarbajejan East
19	215296	Unknown	56	215799	Unknown	93	216228	Azarbajejan East	94	216238	Unknown
20	215331	Unknown	57	215813	Unknown	94	216238	Unknown	95	216265	Tehran
21	215347	Unknown	58	215843	Unknown	95	216265	Tehran	96	216227	Unknown
22	215363	Unknown	59	215858	rasanKho	96	216227	Unknown	97	216279	Unknown
23	215377	Khorasan	60	215886	Unknown	97	216279	Unknown	98	216289	Unknown
24	215404	Unknown	61	215887	Azarbajejan East	98	216289	Unknown	99	216310	Esfahan
25	215437	Khorasan	62	215909	Azarbajejan astE	99	216310	Esfahan	100	216313	Azarbajejan East
26	215474	Khorasan	63	215913	Unknown	100	216313	Azarbajejan East	101	216324	Unknown
27	215447	Unknown	64	215920	Unknown	101	216324	Unknown	102	216325	Unknown
28	215480	Unknown	65	215936	Khorasan	102	216325	Unknown	103	216333	Unknown
29	215484	Unknown	66	215940	Unknown	103	216333	Unknown	104	216356	Unknown
30	215505	Unknown	67	215941	Unknown	104	216356	Unknown	105	216364	Unknown
31	215529	Unknown	68	215944	Unknown	105	216364	Unknown	-	-	Iccarda
32	215537	Khorasan	69	215948	Unknown	-	-	Iccarda	-	-	Fars
33	215538	Khorasan	70	215950	Khorasan	Arman	-	Fars	-	-	Iccarda
34	215543	Fars	71	215979	Unknown	Jam	-	Iccarda	-	-	Kermanshah
35	215551	Unknown	72	215989	Unknown	Hashem	-	Kermanshah	-	-	Turkey
36	215557	Unknown	73	215995	Unknown	Bivanij	-	Turkey	-	-	
37	215559	Unknown	74	216001	Unknown	ILC-482	-		-	-	

جدول ۲- صفات اندازه گیری شده برای ارزیابی تنوع ژنتیکی توده های نخود
Table 2. Measured agronomic traits for evaluation of genetic variation in chickpea accessions

Traits	صفات	علامت Symbol	ردیف Row
50% Date of flowering	تاریخ ۵۰٪ گل دهی	DF-50%	1
50% Date of podding	تاریخ ۵۰٪ غلاف دهی	DP-50%	2
90% Date of Maturity	تاریخ ۹۰٪ رسیدگی	DM-90%	3
Canopy wide	عرض کانوپی	CanW	4
Soil and plant analyzer derision	میزان کلروفیل برگ	SPAD	5
First pPod height (cm)	ارتفاع اولین غلاف از سطح زمین	PH-1P	6
Plant height (cm)	ارتفاع بوته	PH	7
Pod length (cm)	طول غلاف	PL	8
Pod diameter (cm)	قطر غلاف	PW	9
Number of seed per pod	تعداد دانه در غلاف	NSPP	10
Number of primary branches	تعداد شاخه های اولیه	NBP	11
100 Seed weight (g)	وزن ۱۰۰ دانه	100SW	12
Grain yield (g)	عملکرد بوته	GY	13
Harvest index	شاخص برداشت	HI	14
Fertility percent	درصد باروری	FER%	15

بیشتری بودند. توده های شماره ۵۲ با وزن ۲۴/۰۶ گرم، ۵۷ با وزن ۲۸/۵۶ گرم و ۸۲ با وزن ۲۳/۴۴ گرم دارای بیشترین میزان عملکرد بوته و توده شماره ۸ با عملکرد ۲/۸۱ گرم در بوته، کمترین میزان عملکرد را داشتند (جدول ۳). صفات عملکرد بوته، تعداد شاخه های اولیه و شاخص برداشت به ترتیب با ۲۲/۸۹، ۲۲/۲، ۱۹/۴۹ درصد دارای بیشترین تنوع بودند. ولی صفات فنولوژیک همچون تاریخ ۹۰٪ رسیدگی، تاریخ ۵۰٪ غلاف دهی و تاریخ ۵۰٪ گل دهی به ترتیب با ۱/۲۳، ۱/۸۹، ۲/۹۱ درصد کمترین میزان ضرایب تغییرات را داشتند. این موضوع نشان می دهد که مجموعه حاضر از نظر صفات عملکرد دانه و تعداد شاخه های اولیه به همراه شاخص برداشت، از

و تاریخ ۹۰٪ رسیدگی تفاوت معنی داری بین ارقام موجود بود ($P \leq 1\%$). محققین زیادی وجود تنوع ژنتیکی را در ژرم پلاسما نخود زراعی گزارش کرده اند (Cheghamirza, 2007؛ Ali et al., 2001؛ Farshadfar et al., 1995).

با مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، به جز برای سه صفت عرض کانوپی، درصد باروری و میزان کلروفیل برگ، تفاوت معنی داری بین توده ها و ارقام مشخص شد. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین عملکرد بوته نشان داد که توده های شماره ۳۹، ۵۱، ۵۲، ۵۴، ۵۵، ۵۷، ۶۲، ۶۹، ۷۳، ۸۲ و ۸۴ در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی داری با میانگین شاهدها داشتند و دارای عملکرد بوته

جدول ۳- مقایسه میانگین عملکرد دانه (گرم در بوته) در توده‌ها و ارقام نخود
Table 3. Mean comparison of seed yield (g/plant) of chickpea accessions and cultivars

شماره توده Accession No.	عملکرد دانه Seed yield	شماره توده Accession No.	عملکرد دانه Seed yield	شماره توده Accession No.	عملکرد دانه Seed yield	شماره توده Accession No.	عملکرد دانه Seed yield
1	6.46c	30	6.71c	57	28.56a	82	23.44a
2	3.70c	31	7.89c	58	11.88c	83	12.52c
6	10.26c	32	7.69c	59	14.54b	84	16.44a
7	3.88c	33	10.71c	60	10.31c	85	8.27c
8	2.81c	34	10.09c	62	21.52a	86	14.27b
9	10.44c	35	12.99b	63	10.21c	87	9.51c
10	7.94c	37	9.57c	64	6.36c	88	0.06d
11	7.80c	38	7.80c	65	14.06b	89	6.46c
12	8.47c	39	20.98a	66	10.46c	90	11.27c
13	8.04c	40	11.00c	67	13.98b	91	8.66c
14	10.65c	41	7.60c	68	9.47c	92	7.05c
15	9.03c	42	9.38c	69	16.03a	93	14.55b
16	10.62c	43	10.24c	70	7.75c	94	12.06c
17	8.99c	44	9.23c	71	8.58c	95	12.91b
18	4.75c	45	13.34b	72	11.31c	96	19.17a
19	8.26c	46	14.13b	73	15.15a	97	3.49c
20	11.61c	47	10.09c	74	13.68b	98	6.60c
21	12.30c	48	9.44c	75	12.82c	99	10.29c
22	7.25c	50	14.02b	76	13.80b	100	9.73c
23	11.69c	51	17.57a	77	11.48c	101	5.98c
25	7.70c	52	24.06a	78	14.41b	102	7.79c
26	9.27c	54	19.20a	79	11.89c	103	10.28c
28	10.36c	55	15.52a	80	6.37c	104	7.59c
29	7.88c	56	14.35b	81	11.13c	105	7.41c
تکرار Replication	Check cultivars	ارقام شاهد Seed yield	عملکرد دانه Seed yield	1Mean Replication	میانگین تکرار ۱	9.47	
1	Arman-1	آرمان-۱	6.67c	2Mean Replication	میانگین تکرار ۲	6.49	
1	Jam-1	جم-۱	10.98c	3Mean Replication	میانگین تکرار ۳	5.35	
1	Hashem-1	هاشم-۱	2.65c	4Mean Replication	میانگین تکرار ۴	8.20	
1	Bivanij-1	بیونج-۱	15.39a	Main Mean	میانگین اصلی	7.37	
1	ILC-1	ILC-1	11.67c				
2	Arman-2	آرمان-۲	5.80c	1Factor Correction	فاکتور تصحیح ۱	2.09	
2	Jam-2	جم-۲	8.30c	2Factor Correction	فاکتور تصحیح ۲	-0.89	
2	Hashem-2	هاشم-۲	2.76c	3torFac Correction	فاکتور تصحیح ۳	-2.03	
2	Bivanij-2	بیونج-۲	8.39c	4Factor Correction	فاکتور تصحیح ۴	0.83	
2	ILC-2	ILC-2	7.19c				
3	Arman-3	آرمان-۳	3.12c	Coefficient of Variation	ضریب تغییرات	22.89%	
3	Jam-3	جم-۳	7.10c				
3	Hashem-3	هاشم-۳	3.63c	LSD5%		5.456	
3	Bivanij-3	بیونج-۳	6.15c	LSD1%		7.657	
3	ILC-3	ILC-3	6.74c				
4	Arman-4	آرمان-۴	7.31c	S.O.V.	درجه آزادی	df	میانگین مربعات MS
4	Jam-4	جم-۴	10.54c	Block	بلوک	3	16.62**
4	Hashem-4	هاشم-۴	3.57c	Genotype	ژنوتیپ	4	32.62**
4	Bivanij-4	بیونج-۴	9.65c	Error	خطا	12	2.85
4	ILC-4	ILC-4	9.95c	Total	کل	19	

Means Checks:7.37 – Coefficient of Variation: 22.89%

- A: Positive Significant Difference with Mean Checks (P≤0.01)
- B: Positive Significant Difference with Mean Checks (P≤0.05)
- C: No significant with Checks Means
- D: Negative Significant Difference with Mean Checks (P≤0.05)
- E: Negative Significant Difference with Mean Checks (P≤0.01)

For details of accession see Table 1.

میانگین شاهدها: ۷/۳۷، ضریب تغییرات: ۲۲/۸۹٪

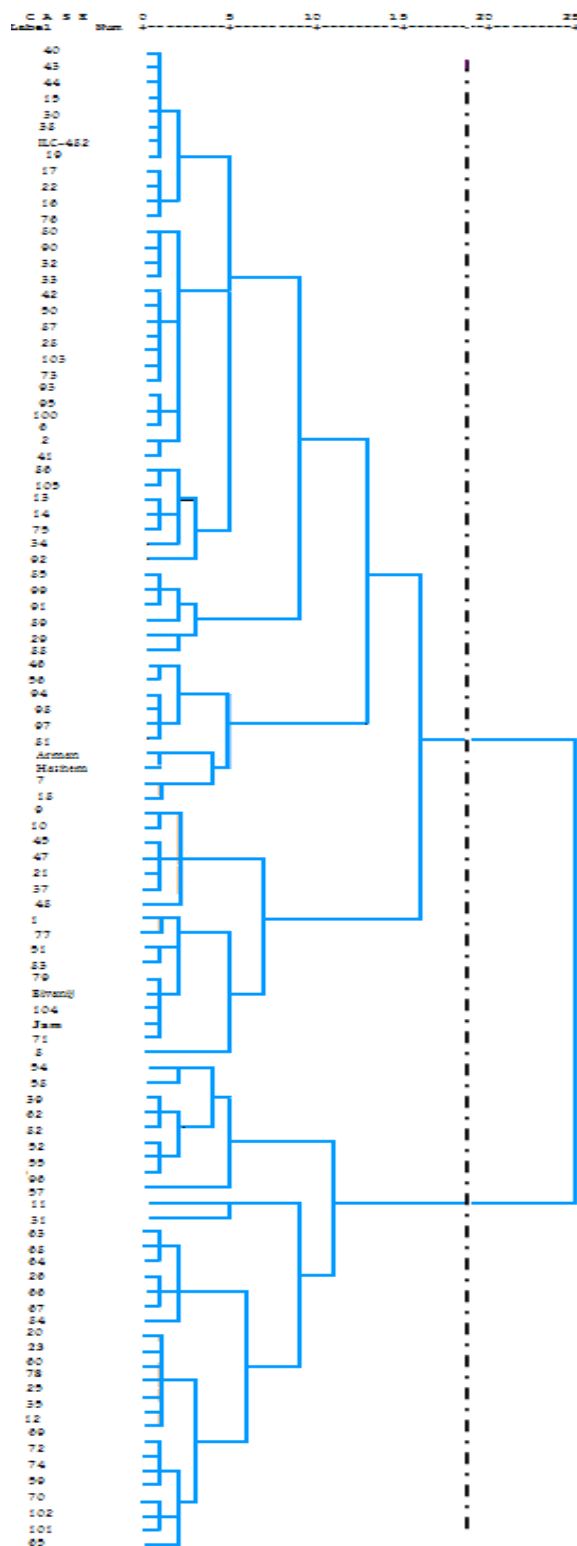
- A: تفاوت معنی دار مثبت با میانگین شاهدها (P≤0.01)
 - B: تفاوت معنی دار مثبت با میانگین شاهدها (P≤0.05)
 - C: تفاوت غیر معنی دار با میانگین شاهدها
 - D: تفاوت معنی دار منفی با میانگین شاهدها (P≤0.05)
 - E: تفاوت معنی دار منفی با میانگین (P≤0.01)
- برای مشخصات توده‌ها به جدول ۱ مراجعه شود.

عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت کاهش می‌یابد. شاخص برداشت بیانگر میزان مواد آلی ساخته شده از منبع به مخزن است. بدیهی است هر چه میزان مواد فتوسنتزی بیشتری از اندام‌های سبز گیاه به دانه منتقل شود سبب افزایش عملکرد دانه می‌شود (Rao et al., 2007). وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد دانه با شاخص برداشت مبین آن است که همراه با روند افزایش عملکرد دانه، نسبت عملکرد اقتصادی به عملکرد بیولوژیک افزایش داشته است. مقادیر عددی همبستگی‌های معنی‌دار به دست آمده بین صفات مختلف، برای اکثر صفات کم بود، که ممکن است معرف همبستگی ژنتیکی بین صفات نباشد. از این رو کم بودن این مقادیر بیانگر این است که این همبستگی‌ها تنها از نظر آماری به دلیل زیاد بودن تعداد نمونه معنی‌دار هستند و از نظر بیولوژیکی احتمالاً ارتباط معنی‌داری بین این صفات (با مقادیر کم همبستگی) وجود ندارد.

نتایج حاصل از تجزیه کلاستر نشان داد که ادغام گروه‌ها در فاصله ۱۸ واحد موجب گروه‌بندی توده‌ها و ارقام در دو کلاستر با خصوصیات درون گروهی مشابه و بین گروهی غیر مشابه می‌شود (شکل ۱). نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص، گروه‌بندی فوق را ۹۶٪ تأیید کرد (جدول ۵). در گروه اول ۳۳ توده و در گروه دوم ۶۸ (۶۳ توده و ۵ رقم) قرار گرفتند. میانگین توده‌ها و ارقامی که در این دو کلاستر قرار گرفتند در جدول ۶ ارائه شده

تنوع بسیار زیادی برخوردار است و انتخاب ارقام برتر برای مقاصد به‌نژادی می‌تواند بر اساس این صفات انجام شود.

ضرایب همبستگی ساده عملکرد دانه در بوته با سایر صفات مورد بررسی در جدول ۴ نشان داده شده است. با توجه به نتایج حاصل از این جدول، صفات مؤثر در عملکرد بوته، مشخص شدند. صفت عملکرد دانه با صفات شاخص برداشت و عرض کانوپی همبستگی مثبت و معنی‌دار و با صفات تاریخ ۵۰٪ گل‌دهی و تاریخ ۵۰٪ غلاف‌دهی همبستگی منفی و معنی‌دار نشان داد. بنابراین در اصلاح نخود برای افزایش عملکرد توجه به این صفات ضروری به نظر می‌رسد و چنانچه اساس انتخاب توده‌ها و ارقام نخود در بین ۱۰۱ نمونه ژنتیکی بر تنوع ژنتیکی قرار گیرد، صفات عرض کانوپی و شاخص برداشت با دارا بودن ضرایب همبستگی مثبت و زودرسی با دارا بودن ضریب همبستگی منفی با عملکرد می‌توانند به عنوان صفات مطلوب مورد استفاده قرار گیرند. نتایج به دست آمده در این تحقیق هم این مورد را تأیید می‌کند. همبستگی بین صفت تعداد روز تا غلاف‌دهی با عملکرد دانه منفی و معنی‌دار بود. با افزایش طول دوره رویشی، طول دوره زایشی کمتر می‌شود و مقدار زیادی از مواد فتوسنتزی صرف توسعه اندام‌های رویشی می‌شود و در نهایت عملکرد کاهش می‌یابد، بنابراین همبستگی منفی بین دو صفت مذکور دور از انتظار نیست. به نظر می‌رسد که در ژنوتیپ‌های دیررس با کاهش



شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای توده‌ها و ارقام نخود بر اساس همه صفات مورد بررسی با استفاده از روش وارد

Fig. 1. Dendrogram obtained with the dissimilarity of the agronomic characteristics by ward's method algorithm for accessions and cultivars of chickpea

For details of accession see Table 1.

برای مشخصات توده‌ها به جدول ۱ مراجعه شود.

جدول ۴- ضرایب همبستگی ساده بین عملکرد دانه با سایر صفات اندازه گیری شده در توده و ارقام مختلف نخود زراعی
Table 4. Correlation coefficients between seed yield and different traits in chickpea accessions and cultivars

	PL	PW	NSPP	NPB	SPAD	PH-1P	PH	100SW	HI	FER%	DF-50%	DP-50%	DM-90%	CanW
SY	0.53	0.030	-0.005	-0.057	-0.120	-0.169	-0.138	0.180	0.459**	0.071	-0.208*	-0.201*	-0.100	0.232*

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

For abbreviations see Table 2.

برای اختصارات به جدول ۲ مراجعه شود.

جدول ۵- تجزیه تابع تشخیص به منظور گروه بندی توده ها و ارقام بر اساس صفات مورد بررسی
Table 5. Discriminant analysis for grouping of chickpea accessions and cultivars based on measuring traits

گروه های پیش بینی شده Predicted groupes	Group 1 گروه اول		Group 2 گروه دوم		Total کل	
	تعداد Number	درصد Percent	تعداد Number	درصد Percent	تعداد Number	درصد Percent
1	68	94.1	0	0	68	94.1
2	0	0	33	100	33	100

Grouping is confirmed about 96%.

گروه بندی ۹۶٪ تأیید شده است.

جدول ۶- میانگین صفات مورد بررسی برای دو کلاستر در توده ها و ارقام مختلف نخود
Table 6. Means of traits for two clusters including different accessions and cultivars of chickpea

	PL	PW	NSPP	NPB	SPAD	PH-1P	PH	SW	SY	HI	Fer %	DF-50%	DP-50%	DM-90%	CanW
1Cluster کلاستر ۱	1.76	0.73	1.20	1.95	54.49	9.86	24.80	17.71	13.47	0.53	44.39	60.21	68.77	85.69	38.95
2Cluster کلاستر ۲	1.76	0.75	1.02	2.24	54.55	13.42	27.87	20.83	9.33	0.44	44.81	65.02	73.86	88.49	38.87

For abbreviations see Table 2.

برای اختصارات به جدول ۲ مراجعه شود.

در یک زیر گروه قرار داشتند. یزدی صمدی و همکاران (Yazdi-Samadi et al., 2004) در مطالعه‌ای ۹۰ ژنوتیپ عدس را در فاصله ۱۰ واحد به دو کلاستر بزرگ شامل ۹ و ۸۱ ژنوتیپ و در فاصله ۵ واحد به پنج کلاستر هر یک شامل ۳۱، ۲۷، ۶ و ۳ ژنوتیپ تفکیک کردند. تشخیص فنوتیپی بر اساس نشانگرهای مورفولوژیکی به واسطه پیچیدگی ژنوتیپ و اثر متقابل محیطی که صفت مورد نظر را تحت تأثیر قرار می‌دهد می‌تواند گمراه کننده باشد (Farooq and Azam, 2002). به همین دلیل گروه‌بندی بر اساس این صفات به دلیل عدم بیان دقیق تغییرات ژنتیکی در سطح ژنوم همواره ممکن است با خطا همراه باشد. بنابراین تحت تأثیر شرایط محیطی متفاوت ممکن است در کلاسترهای به دست آمده تغییراتی ایجاد شود. لذا با توجه به نتایج به دست آمده پیشنهاد می‌شود که با انجام مطالعات بیشتر در خصوص سایر اجزای عملکرد و شاخص‌های مربوط به مقاومت‌ها و صفات مطلوب زراعی، مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، کیفیت پخت و فرآوری و قابلیت بهره‌وری در صنایع غذایی، ارزش تغذیه‌ای و محتوای متابولیت‌ها و عناصر ارزشمند غذایی و هم‌چنین ارزیابی تنوع ژنتیکی با سایر نشانگرهای مورفولوژیکی با قابلیت بهره‌برداری در برنامه‌های به‌نژادی، برترین توده‌ها و ارقام شناسایی و جایگزین توده‌ها و ارقام رایج شوند. از آن جایی که ضرایب همبستگی ممکن است

است. توده‌های موجود در کلاستر اول، از نظر صفات تعداد دانه در غلاف، عملکرد بوته، شاخص برداشت و عرض کانوپی بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. با توجه به خصوصیات این کلاستر می‌توان برای افزایش عملکرد و شاخص برداشت از توده‌های موجود در این کلاستر بهره گرفت. توده‌ها و ارقام موجود در کلاستر دوم نیز به علت داشتن وزن ۱۰۰ دانه، تعداد شاخه‌های اولیه، ارتفاع اولین غلاف از سطح زمین و ارتفاع بوته بیشتر دارای اهمیت بودند. ارتفاع گیاه و ارتفاع اولین غلاف از سطح زمین به خاطر برداشت مکانیکی، صفات مطلوبی محسوب می‌شوند. پس می‌توان از این نمونه‌ها در برنامه‌های دورگ‌گیری برای انتقال صفات مذکور استفاده کرد. از آن جایی که نمونه‌های ژنتیکی موجود در یک کلاستر دارای قرابت ژنتیکی بیشتری نسبت به نمونه‌های ژنتیکی موجود در کلاسترهای متفاوت هستند، بنابراین در صورت نیاز به دورگ‌گیری می‌توان با توجه به توده‌ها و ارقام موجود در کلاسترهای مختلف، برای بهره‌وری بیشتر از پدیده‌هایی هم‌چون هتروزیس و تفکیک متجاوز استفاده نمود. میانگین تشابه نمونه‌ها نسبت به یک دیگر ۰/۳۸ بود. کمترین تشابه را رقم آرمان و توده شماره ۸۴ (با ضریب تشابه ۰/۰۷ نسبت به سایر نمونه‌ها) داشتند، که در کلاسترهای جداگانه قرار گرفتند و بیشترین تشابه مربوط به دو توده شماره ۵۱ و ۸۳ (با ضریب تشابه ۰/۹ نسبت به سایر نمونه‌ها) بود که هر دو در یک کلاستر و

۹/۳۱ درصد می‌توان تحت عنوان عامل عملکرد نام برد. نتایج تجزیه همبستگی ساده صفات نیز نشان‌دهنده همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد دانه با شاخص برداشت بود. بدیهی است در صورتی که انتخاب بر اساس عامل پنجم انجام شود، این عامل بیشترین میزان عملکرد دانه را نشان خواهد داد. این نتایج نشان می‌دهد که افزایش عملکرد دانه می‌تواند از طریق انتخاب غیر مستقیم صفات مؤثرتر باشد و از پیشرفت ژنتیکی بیشتری برخوردار شود. این موضوع را می‌توان به پلی‌ژنیک بودن و پایین بودن وارثت‌پذیری عملکرد دانه نسبت داد (Siahpoosh *et al.*, 2003). در عامل ششم تعداد شاخه‌های اولیه دارای بیشترین بار عاملی بودند که این عامل را می‌توان به عنوان معماری گیاه شناخت. توکر (Toker, 2003) چهار عامل پنهانی را به منظور ارزیابی اجزاء عملکرد در نخود زراعی شناسایی کرد که ۸۷ درصد از واریانس مشاهده شده در صفات را توجیه می‌کرد. عامل اول شامل عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و تعداد غلاف در هر گیاه بود. عامل سوم شامل ارتفاع گیاه و ارتفاع اولین غلاف از سطح زمین بود و عامل چهارم هم صفت وزن ۱۰۰ دانه را در بر گرفت. در نتایج مطالعه حاضر صفات عملکرد دانه، ارتفاع گیاه و وزن ۱۰۰ دانه به ترتیب جزء عامل‌های پنجم، سوم و دوم قرار گرفتند. توکر و کاگیرگان (Toker and Cagirgan, 2004) با استفاده از تحلیل عاملی در مطالعه‌ای روی نخود زراعی

اطلاعات کاملی از ارتباط بین صفات مختلف را ارائه ندهند و هم‌چنین با در نظر گرفتن مزایای متعدد تجزیه‌های آماری چند متغیره، به منظور درک عمیق ساختار داده‌ها می‌توان از تجزیه عامل‌ها استفاده کرد. بر مبنای مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک شش عامل استخراج شد. این عوامل در کل ۷۵/۸۲ درصد از تغییرات داده‌ها را توجیه کردند (جدول ۷). عامل اول که بیشترین حجم (۲۰/۵۷ درصد) از تغییرات داده‌ها را در بر گرفت، دارای ضرایب بزرگ و مثبت برای تاریخ ۵۰٪ گل‌دهی، تاریخ ۵۰٪ غلاف‌دهی و تاریخ ۹۰٪ رسیدگی بود که می‌توان آن را به عنوان عامل فنولوژیک معرفی کرد. در مطالعه حاضر نتایج تجزیه همبستگی ساده نیز مبین وجود همبستگی معنی‌دار بین صفات فنولوژیک با عملکرد دانه بود که با نتایج تجزیه عاملی توافق دارد. عامل دوم دارای ضرایب عاملی معنی‌دار روی صفات وزن ۱۰۰ دانه، طول غلاف و عرض غلاف بود. می‌توان این عوامل را عامل ویژگی بذر نام‌گذاری کرد. در عامل سوم، صفات ارتفاع بوته، ارتفاع اولین غلاف از سطح زمین، میزان کلروفیل برگ و عرض کانوبی بیشترین تأثیر را داشتند. بنابراین این عامل را می‌توان به عنوان قامت گیاه نام‌گذاری کرد. در عامل چهارم متغیرهای تعداد دانه در غلاف و درصد باروری دارای بار عاملی مثبت و زیادی بودند که این عامل به نام عامل باروری نام‌گذاری شد. از عامل پنجم با صفات عملکرد دانه و شاخص برداشت با مقدار واریانس توجیهی

جدول ۷- تجزیه عامل‌های چرخش یافته (چرخش واریماکس) برای صفات زراعی توده‌ها و ارقام نخود

Table 7. Factor analysis with varimax rotation for agronomic characters in chickpea accessions and cultivars

Trait	صفت	عامل ۱ Factor 1	عامل ۲ Factor 2	عامل ۳ Factor 3	عامل ۴ Factor 4	عامل ۵ Factor 5	عامل ۶ Factor 6
PL	طول غلاف	0.178	0.781	9.573E-02	0.195	7.848E-02	1.884E-03
PW	قطر غلاف	3.102E-02	0.898	-8.54E-03	-5.01E-02	-3.90E-02	1.229E-02
NSPP	تعداد دانه در غلاف	-4.80E-02	-0.117	-9.79E-02	0.850	-2.79E-02	-0.152
NPB	تعداد شاخه های اولیه	4.285E-02	2.625E-02	0.104	-6.44E-02	-4.47E-02	0.931
SPAD	میزان کلروفیل برگ	-0.303	0.207	0.562	0.343	-0.301	-3.53E-02
PH-1P	ارتفاع اولین غلاف از سطح زمین	0.428	0.184	0.703	-2.90E-02	-3.37E-02	0.101
PH	ارتفاع بوته	0.250	-4.40E-02	0.856	-4.63E-02	-2.19E-02	5.643E-02
100SW	وزن ۱۰۰ دانه	-6.21E-02	0.712	0.337	-0.380	0.176	0.142
GY	عملکرد بوته	-0.153	6.118E-02	-8.90E-02	5.923E-02	0.904	-2.77E-02
HI	شاخص برداشت	-0.612	3.793E-03	0.107	0.253	0.474	-0.279
FER%	درصد باروری	9.82E-02	0.209	0.226	0.596	0.167	0.434
DF-50%	تاریخ ۵۰٪ گل دهی	0.892	9.878E-02	0.188	8.186E-02	-9.67E-02	4.360E-02
DP-50%	تاریخ ۵۰٪ غلاف دهی	0.869	5.097E-02	0.159	-4.26E-02	-0.118	8.148E-02
DM-90%	تاریخ ۹۰٪ رسیدگی	0.865	4.018E-02	9.294E-02	1.813E-02	7.077E-02	-8.62E-02
CanW	عرض کانوپی	3.384E-02	0.214	0.492	-5.19E-02	0.406	0.173
Relative variance	واریانس نسبی	20.574	14.147	13.793	9.752	9.310	8.249
Cumulative variance	واریانس تجمعی	20.574	34.721	48.514	58.266	67.576	75.825

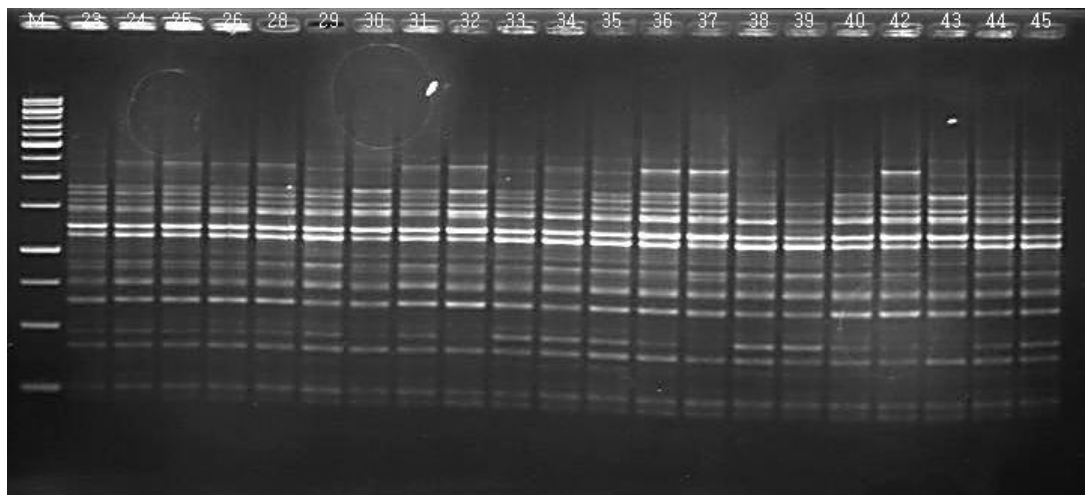
For abbreviations see Table 2.

برای اختصارات به جدول ۲ مراجعه شود.

عامل فنولوژیک، ویژگی بذر، قامت گیاه، باروری، عملکرد و معماری گیاه در تجزیه عاملی استخراج شدند. این موضوع نشان دهنده این است که در فرآیند رشد و محصول دهی ارقام و توده های مختلف نخود زراعی در شرایط مختلف این شش عامل نقش به سزایی را به عهده دارند.

در این بررسی تعداد ۲۶ آغازگر RAPD مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۸). باندهایی که به طور واضح قابل مشاهده و تکرارپذیر بودند امتیازبندی و به منظور گروه بندی توده ها و ارقام انتخاب شدند. در مجموع ۵۶۴ باند توسط این نشانگرها تولید شد (به طور متوسط ۲۱/۷ باند در هر آغازگر) که از بین آنها ۳۲۱ باند چندشکل بود (به طور متوسط ۱۲/۳ باند در هر آغازگر). اندازه باندها بین ۲۵۰ تا ۴۰۰۰ جفت باز متغیر بود. در شکل ۲ باندهای ایجاد شده با آغازگر UBC18 در بین توده های ۲۳ تا ۴۵ نشان داده شده است. از آن جایی که آغازگرهایی با چندشکلی بالا در تجزیه RAPD مورد استفاده قرار گرفته بودند، بنابراین تعداد نسبتاً زیادی از نشانگرهای RAPD چندشکل توسط این آغازگرها آشکار شدند. ضریب تشابه ژنتیکی جا کارد، بین مجموعه توده ها و ارقام مورد بررسی، از ۰/۶۸ تا ۰/۹۷ و به طور متوسط ۰/۸۸ متغیر بود. درصد چندشکلی برای هر آغازگر بین ۳۰/۴۳٪ مربوط به آغازگر T₁₈ تا ۹۶/۲۹٪ مربوط به آغازگر D₁₂ و به طور متوسط ۵۶/۵۵٪ بود (جدول ۸) که این نشان دهنده

سه عامل را شناسایی کردند که ۹۲/۹ درصد از کل واریانس ایجاد شده در صفات را توجیه می کرد. صفات ارتفاع گیاه، عملکرد دانه و شاخص برداشت در عامل اول، صفت تعداد شاخه ها در عامل دوم و صفت وزن صد دانه نیز در عامل سوم قرار گرفتند. در مطالعه حاضر صفات ارتفاع گیاه، شاخص برداشت و عملکرد دانه، وزن صد دانه و تعداد شاخه های اولیه به ترتیب در عامل های سوم، پنجم، دوم و ششم قرار گرفتند. سبکدست و خیال پرست (Sabokdast and Khylyparast, 2008) با استفاده از تجزیه به عامل ها در گیاه لویا سه عامل را استخراج کردند که ۷۸/۷ درصد از تغییرات کل داده ها را توجیه کرد. این عامل شامل وزن غلاف، عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و تعداد غلاف در بوته بود. که به عنوان عامل عملکرد و اجزای عملکرد نام گذاری شد. در این مطالعه عامل دوم تحت عنوان عامل ویژگی های بذر نام گذاری شد که شامل صفات طول بذر، ضخامت بذر، طول غلاف و وزن صد دانه بود و در کل ۲۷/۰۸ درصد از کل تغییرات داده ها را توجیه می کرد. به طور کلی در این تحقیق نتایج تجزیه همبستگی ساده نشان داد که صفات شاخص برداشت و عرض کانوپی مهم ترین اجزای مؤثر محسوب می شوند و با توجیه مقدار زیادی از تغییرات موجود در عملکرد دانه می توانند برای بهبود دانه نخود زراعی در برنامه های به نژادی به عنوان مبنایی برای انتخاب قابل توجه باشند. همچنین نکته قابل توجه این است که شش



شکل ۲- الگوی بانندی RAPD در توده‌های نخود شماره ۲۳ تا ۴۵ با استفاده از آغازگر M, UBC18: ساینز مارکر

Fig. 2. RAPD fingerprinting produced in chickpea accession No. 23 to 45 by UBC18 primer, M: Size marker

جدول ۸- نتایج حاصل از بررسی توده‌ها و ارقام نخود با استفاده از نشانگر RAPD

Table 8. The results of chickpea accessions and cultivars using RAPD marker

نام آغازگر	توالی آغازگر (۳' ۵')	دمای اتصال آغازگر	تعداد کل باندها	تعداد باند چند شکل	درصد چند شکلی (POL) Polymorphic percent	محتوای اطلاعاتی چند شکلی (PIC) Polymorphic information content	شاخص نشانگر Marker index
Primer name	Primer sequence 5' to 3'	Annealing temperture of primer	Total number of bands	Number of polymorphic band	(POL) Polymorphic percent	Polymorphic information content	Marker index
UBC1	CCTGGGCTTC	37	20	11	55.00	0.24	13.20
UBC9	CCTGCGCTTA	30	28	18	64.28	0.47	30.21
UBC18	GGGCCGTTTA	30	18	11	61.11	0.12	7.33
UBC31	CCGGCCTTCC	30	18	10	55.55	0.09	5.26
UBC52	TTCCCGGAGC	30	18	10	55.55	0.24	13.33
E7	AGATGCAGCC	40	22	15	68.18	0.30	20.45
OPC10	TGTCTGGGTG	37	15	6	40.00	0.66	26.40
OPC07	GTCCCGACGA	40	25	16	64.00	0.35	22.40
T19	GTCCGTATGG	40	24	18	75.00	0.55	41.27
E10	CACCAGGTGA	40	25	13	52.00	0.15	7.80
OPC08	TGGACCGGTG	40	21	12	57.14	0.23	13.14
U17	ACCTGGGGAG	37	16	10	62.50	0.33	20.63
UII	AGACCCAGAG	40	19	15	78.94	0.17	13.46
OPC15	GACGGATCAG	40	23	13	56.52	0.26	14.69
A7	GAAACGGGTG	40	23	12	52.17	0.11	5.73
ABI	CCGTCGGTAG	40	19	11	57.89	0.13	7.74
OPC13	AAGCCTCGTC	40	20	9	45.00	0.38	17.24
C9	CTCACCGTCC	35	23	9	39.13	0.25	9.78
C16	CACACTCCAG	40	20	8	40.00	0.21	8.40
T18	GATGCCAGAC	40	23	7	30.43	0.35	10.65
E17	CTACTGCCGT	40	21	13	61.90	0.22	13.86
T9	CACCCCTGAG	40	24	17	70.83	0.45	31.87
E16	GGTGACTIONG	37	23	10	43.47	0.16	7.05
E19	ACGGCGTATG	40	26	11	44.00	0.23	10.12
D12	CACCGTATCC	40	27	26	96.29	0.37	35.63
OPC04	CCGCATCTAC	35	23	10	43.47	0.25	10.92

مجموعه مورد مطالعه است. بر این اساس

نسبتاً قابل قبول بودن میزان تنوع ژنتیکی در

خوشه‌ای به روش UPGMA بر اساس ضریب جاکارد در شکل ۳ آمده است. بهترین نقطه برش، نقطه‌ای بود که نسبت به سایر نقاط برش دندروگرام بالاترین میزان متوسط شاخص F (۸۵/۶) را دارا بود. بر اساس ضریب تشابه جاکارد توده‌ها و ارقام به ۱۰ گروه تقسیم شدند.

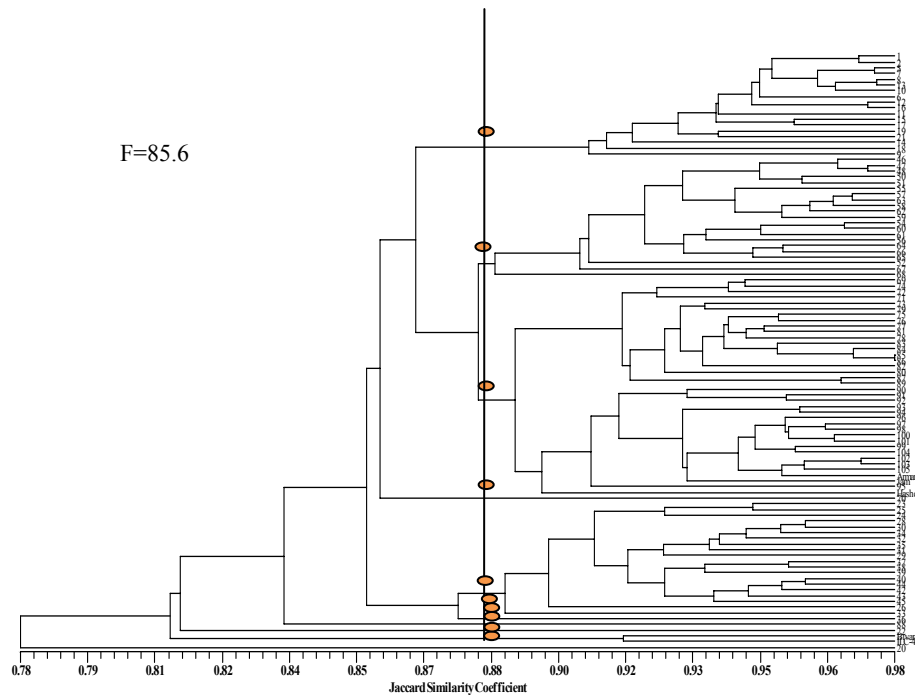
عدم وجود رابطه بین منشأ جغرافیایی و کلاستر توده‌ها و ارقام مختلف، پیشنهاد می‌کند که نخود توانسته در طول دوره‌های تاریخی متفاوت، از مرکز اولیه‌اش در خاورمیانه، به واسطه فعالیت بشر گسترش یابد. پس مطالعه یک مجموعه بزرگ‌تر شاید بتواند اطلاعات بهتری راجع به تنوع ژنتیکی و رابطه‌اش با منشأ جغرافیایی فراهم کند. این اطلاعات می‌توانند در مدیریت منابع ژنتیکی در این گونه‌ها خیلی با ارزش باشند. ایرولا و همکاران (Iruela et al., 2002) نیز یک رابطه مشخص و واضحی بین گروه‌ها و منشأ جغرافیایی ۷۵ توده نخود زراعی پیدا نکردند.

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مشابه با نتایج قوامی (Ghavami, 1997) و ضابط و همکاران (Zabet et al., 2005) روی ماش است. ضریب کوفتیک برای ضریب تشابه جاکارد، ۰/۸۵ بود که نشان دهنده برآزش خوب بین دندروگرام و ماتریس شباهت اصلی است. در ماتریس تشابه جاکارد شباهت زیادی بین توده‌های شماره ۸۶ و ۸۵ مشاهده شد و از نظر مورفولوژیکی نیز به عنوان توده‌های دارای خصوصیات وزن ۱۰۰ دانه، تعداد شاخه‌های

آغازگر D₁₂ را می‌توان با تکثیر ۲۶ باند چندشکل از ۲۷ باند تولید شده به عنوان یک آغازگر مناسب در تکثیر نواحی مختلف ژنومی نخود دانست.

طالبی و همکاران (Talebi et al., 2008) سطح بالایی از چندشکلی و تعداد زیادی باندهای تکثیر یافته با وضوح بالا را در نخود زراعی گزارش کردند. که این بر خلاف نتایج ایرولا و همکاران (Iruela et al., 2002) بود که سطح پایینی از تنوع ژنتیکی را در مقایسه با گونه‌های وحشی نخود زراعی گزارش کردند. سطح چندشکلی نمایان شده به وسیله این توده‌ها و ارقام می‌تواند در نقشه‌یابی ژنتیکی جمعیت‌ها برای نشان‌مند کردن صفات مهم اقتصادی به کار رود و همچنین در گزینش والدین برای اهداف اصلاحی کمک خواهد کرد. در این میان بیشترین شباهت ژنتیکی بین توده‌های شماره ۸۵ و ۸۶ و کمترین آن بین توده شماره ۲۰ و رقم ILC-482 بود.

بر اساس ۲۶ آغازگر RAPD توزیع مقادیر PIC بین ۰/۰۹ تا ۰/۶۶ با میانگین ۰/۲۸ بود. شاخص نشانگر نیز بر اساس تعداد باندهای چندشکل در هر واحد سنجش و از حاصل ضرب PIC در POL محاسبه شد. مقدار شاخص نشانگر محاسبه شده برای آغازگرهای مورد مطالعه از ۵/۲۶ تا ۴۱/۲۷ متغیر بود. بیشترین مقدار شاخص نشانگر متعلق به آغازگر T₁₉ بود که نشان دهنده قدرت تفکیک بالاتر این آغازگر در مقایسه با سایر آغازگرهاست (جدول ۸). دندروگرام حاصل از تجزیه



شکل ۳- دندروگرام حاصل از نشانگر RAPD بر اساس ضریب تشابه جاکارد با استفاده از روش UPGMA

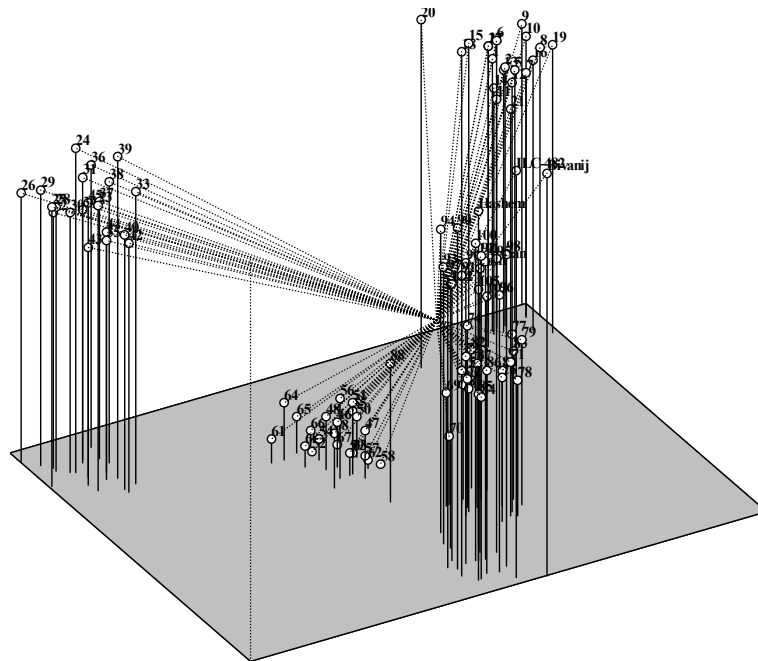
Fig. 3. Dendrogram illustrating genetic relationships among accessions and cultivars using RAPD, based on Jaccard similarity and UPGMA method

For details of accession see Table 1.

برای مشخصات توده‌ها به جدول ۱ مراجعه شود.

تجزیه کلاستر کاملاً مطابقت داشت. بر اساس نتایج به دست آمده توده شماره ۲۰ و رقم ILC-482 بر اساس ضریب تشابه جاکارد کمترین شباهت ژنتیکی را داشتند که در گروه‌بندی کلاستر و نمودار پراکندگی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی هم در گروه‌های جداگانه‌ای قرار گرفتند با توجه به نتایج حاصل از این تجزیه، سه مؤلفه اصلی توانستند مجموعاً ۳۳/۴۶ درصد از واریانس کل را توجیه کنند. مؤلفه اول که بزرگ‌ترین مؤلفه به شمار می‌رود ۱۳/۷۲ درصد، مؤلفه دوم ۱۱/۶ و مؤلفه سوم ۸/۱۴ درصد از تنوع کل را توجیه کردند. در بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از داده‌های مربوط به نشانگرهای DNA، بهترین

اولیه، ارتفاع اولین غلاف از سطح زمین و ارتفاع بوته بیشتر، ارزشمند بودند. همچنین بر اساس ماتریس تشابه، کمترین شباهت مربوط به توده شماره ۲۰ و رقم ILC-482 بود. این دو توده و رقم ضمن این که از نظر ملکولی در دو گروه مختلف قرار گرفتند، از نظر مورفولوژیکی نیز خصوصیات متمایزی از یک دیگر داشتند. بر اساس سه مؤلفه ابتدایی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از شاخص جاکارد، پراکندگی توده‌ها و ارقام مورد بررسی قرار گرفت و الگوی تنوع میان ژنوتیپ‌ها رسم شد (شکل ۴). با توجه به این نمودار، توده‌ها و ارقام مورد مطالعه در ده گروه قرار گرفتند که با گروه‌بندی حاصل از



شکل ۴ - نمودار پراکنش توده‌های نخود در اطراف سه مؤلفه ابتدایی در تجزیه به مختصات اصلی بر اساس نشانگر RAPD

Fig. 4. Dispersion of chickpea accessions based on three coordinates estimated using RAPD markers

For details of accessions see Table 1.

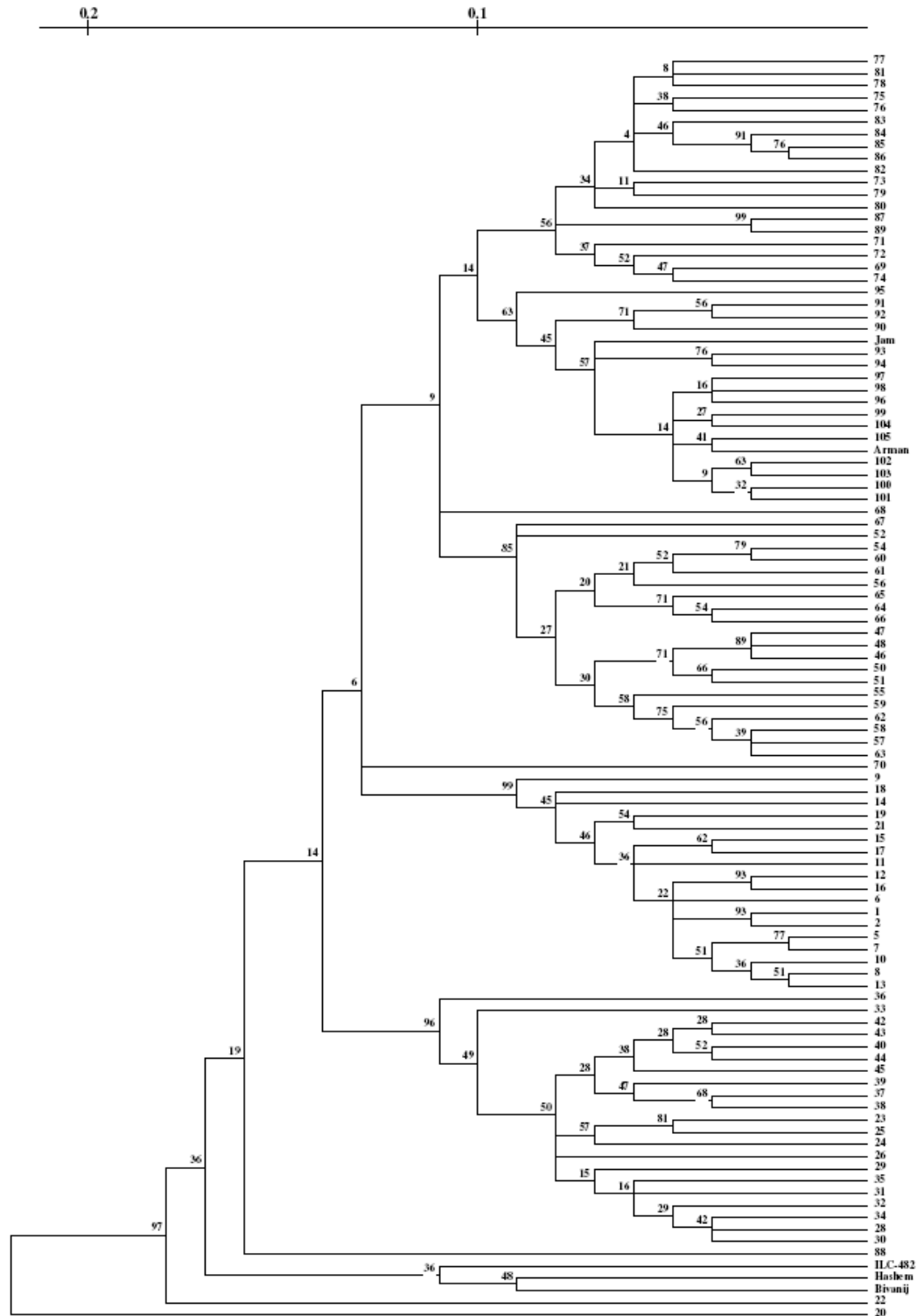
برای مشخصات توده‌ها به جدول ۱ مراجعه شود.

تشابه جاکارد انجام شد. تعدادی از گروه‌بندی‌ها با مقادیر بالای بوت‌استرپ تأیید شدند (شکل ۵). رای چاودهوری و همکاران (Ray chadhury *et al.*, 2007) در مطالعه‌ای به منظور تشخیص و آشکارسازی روابط ژنتیکی، ارقام نخود فرنگی را به دو کلاستر اصلی با دو زیر گروه در هر کلاستر گروه‌بندی کردند، که زیر گروه‌های درون کلاسترهای اصلی با مقادیر بالای بوت‌استرپ تأیید شدند.

آزمون منتل برای تشخیص همبستگی بین ماتریس تشابه ۱۰۰ توده و رقم مشترک حاصل از نشانگرهای RAPD و مورفولوژیکی استفاده شد. نتایج نشان داد که بین نشانگر RAPD و داده‌های زراعی همبستگی معنی‌دار وجود

حالت آن است که نشانگرها توزیع یکنواخت و مناسبی در ژنوم داشته باشند و بتوانند از تمام ژنوم نمونه‌برداری کنند. همان‌گونه که انتظار می‌رفت در این مطالعه نیز توجیه بخش کمتری از تنوع کل توسط چند مؤلفه اول و توزیع واریانس بین این مؤلفه‌ها، بیانگر توزیع مناسب نشانگرها در روی ژنوم بود.

همان‌گونه که در شکل مشاهده می‌شود، تجمع افراد در اطراف مؤلفه اول بیشتر است. این امر نشان دهنده آن است که جمعیت‌های تجمع یافته اطراف این مؤلفه بیشترین سهم را در توجیه تنوع بر عهده دارند. برای تأیید زیر گروه‌های درون کلاستر اصلی، گروه‌بندی به روش بوت‌استرپ، بر اساس ضریب



شکل ۵- گروه بندی توده ها و ارقام نخود با استفاده از نشانگر RAPD بر اساس ضریب تشابه جاکارد به روش بوت استرپ

Fig. 5. Grouping accessions and cultivars of chickpea using of RAPD marker based on Jaccard similarity coefficient and bootstrap method

For details of accessions see Table 1.

برای مشخصات توده ها به جدول ۱ مراجعه شود.

تنوع ژنتیکی موجود در آن‌ها مناسب می‌باشد، به طوری که در آینده می‌توان با برنامه‌های به‌نژادی مناسب در جهت افزایش عملکرد و اجزاء آن، گام‌های اساسی برداشت. به این ترتیب به منظور اصلاح یک صفت خاص، می‌توان از رقمی که دارای صفت مذکور است و اختلاف ژنتیکی بالا با رقم مورد اصلاح دارد، در برنامه دورگ‌گیری استفاده کرد.

در بخش ملکولی این تحقیق توده شماره ۲۰ و رقم 482- ILC نسبت به سایر توده‌ها و ارقام فاصله ژنتیکی بیشتری نشان دادند بنابراین می‌توان با مطالعات تکمیلی و شناسایی بیشتر این توده‌ها و ارقام، از آن‌ها به عنوان والدین در دورگ‌گیری برای تولید ارقام دورگ استفاده کرد. توده‌های شماره ۲۰، ۲۲، ۳۶، ۷۰ نسبت به بقیه توده‌ها و ارقام نخود زراعی به صورت جداگانه در گروه‌هایی مجزا قرار گرفتند. این توده‌ها می‌توانند برای تعیین نقشه ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرند و در برنامه‌های تلاقی‌پذیری به منظور گسترش پایه ژنتیکی نخود زراعی مشارکت داشته باشند. بیشتر برنامه‌های اصلاحی قبلی در اکثر مراکز تحقیقاتی ایران بر پایه خصوصیات مورفولوژیکی انجام شده است اما این مطالعه اهمیت مطالعات ملکولی را همراه با داده‌های مورفولوژیکی در آشکارسازی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها برای انتخاب والدین متنوع برای انجام موفقیت‌آمیز یک برنامه دورگ‌گیری جدید را نشان داد. همچنین نتایج به دست آمده از این مطالعه

ندارد ($r = -0.003$). علت اصلی عدم تطابق بین کلاستر بندی مبتنی بر RAPD و صفات کمی به این دلیل می‌تواند باشد که بیشتر صفات کمی با یک یا تعداد زیادی از ژن‌ها (پلی‌ژن‌ها) کنترل می‌شوند و این صفات در سطح بالایی توسط محیط تحت تأثیر قرار می‌گیرند. گذشته از این نشانگرهای RAPD به طور تصادفی در سراسر ژنوم توزیع شده‌اند و در اکثریت موارد بیشتر مناطق ژنوم (تقریباً ۹۰٪) در فنوتیپ بیان نمی‌شوند. بنابراین یافتن تشابه بین گروه‌بندی‌های مبتنی بر RAPD و صفات کمی مشکل به نظر می‌رسد. همچنین فقدان همبستگی بین این داده‌ها می‌تواند ناشی از تعداد کمتر نشانگرهای استفاده شده در تجزیه کلاستر نیز باشد (Dey et al., 2006) و نیز دلالت بر این دارد که دو سیستم برآوردهای متفاوتی از روابط ژنتیکی بین نمونه‌ها دارند. علاوه بر این داده‌های فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و فنولوژیکی بر اساس پانزده صفت بودند که ممکن است برای انعکاس تنوع واقعی بین توده‌ها و ارقام، تعداد این صفات کم باشد. که این نتایج عدم همبستگی بین داده‌های زراعی و مولکولی مشابه نتایج تاران و همکاران (Taran et al., 2004) روی نخودفرنگی و ترزوپولوس و بیلی (Terzopoulos and Bebeli, 2008) روی باقلا است. از بررسی انجام شده برای گروه‌بندی توده‌ها و ارقام موجود در هسته مرکزی نخود ایران، چنین استنباط می‌شود که

سپاسگزاری

بدینوسیله از مسئولین بانک ژن گیاهی ملی ایران و مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به خاطر در اختیار قرار دادن مواد گیاهی صمیمانه قدردانی می‌شود.

می‌تواند برای مدیریت مؤثر منابع ژنتیک از طریق تعیین حجم نمونه‌های ذخایر توارثی جهت نگهداری در بانک ژن یا بذر و شناسایی هم‌نامی‌ها و ترادف‌ها و نیز تشخیص توده‌ها مفید شد.

References

- Ahmad, F.** 1999. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis reveals genetic relationships among the annual *Cicer* species. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 657-663.
- Ahmad, F., Gaur, P. M., and Slinkard, A. E.** 1992. Isozyme polymorphism and phylogenetic interpretations in the genus *Cicer* L. *Theoretical and Applied Genetics* 83: 620-627.
- Ahmad, F., and Slinkard, A. E.** 1992. Genetic relationships in the genus *Cicer* L. as revealed by polyacrylamide gel electrophoresis of seed storage proteins. *Theoretical and Applied Genetics* 84: 688-692.
- Ali, A., Mahmood, K., Bhatti, M. S., and Tufail, M.** 1995. Visual scoring for the selection of high yielding pure line varieties of chickpea. *International Chickpea and Pigeon Pea Newsletter* 2: 14-15.
- Baranger, A., Aubert, G., Arnau, G., Laine, AL., Deniot, G., Potier, J., Weinachter, C., Lejeune-Henaut, I., Lallemand, J., and Burstin, J.** 2004. Genetic diversity within *Pisum sativum* using protein and PCR- based markers. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 1309-1321.
- Cheghamirza, S.** 2007. Evaluation of genetic diversity in chickpea using agronomic traits. MSc. Thesis, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Kermanshah, Kermanshah, Iran (in Persian).
- Ciftci, V., Togay, N., Togay, Y., and Dogan, Y.** 2004. Determining relationships among yield and some yield components using path coefficient analysis in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Asian Journal of Plant Sciences* 3 (5): 632-635.
- Dey, S. S., Singh, A. K., Chandel, D., and Behera, T. K.** 2006. Genetic diversity of bitter gourd (*Momordica charantia*) genotypes revealed by RAPD markers and agronomic traits. *Scientia Horticulturae* 109: 21-28.

- Farooq, F., and Azam, F. 2002.** Molecular markers in plant breeding-I: concepts and characterization. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 5 (10): 1135-1140.
- Farshadfar, E. A., Zamani, M. R., Motallebi, M., and Emamjomeh, A. A. 2001.** Selection for drought resistance in chickpea lines. *Iranian Journal of Agriculture Sciences* 32 (1): 65-77 (in Persian).
- Ghareyazi, B. 1996.** Application of DNA markers in plant breeding. Proceedings of the 4th Iranian Congress on Crop Production and Plant Breeding. Aug. 26-31, Isfahan, Iran (in Persian).
- Ghavami, F. 1997.** Evaluation of diversity of morphological, Phenological and protein electrophoretic models in mung bean. MSc. Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran (in Persian).
- Iruela, M., Rubio, J., Cubero, J. I., Gil, J., and Millan, T. 2002.** Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 104: 643- 651.
- Kazan, K., and Muehlbauer, F. G. 1991.** Allozyme variation and phylogeny in annual species of *Cicer* (Leguminosae). *Plant Systematic and Evolution* 175: 11-21.
- Labdi, M., Robertson, L. D., Singh, K. B., and Charrier, A. 1996.** Genetic diversity and phylogenetic relationships among the annual *Cicer* species as revealed by isozyme polymorphisms. *Euphytica* 88: 181-188.
- Ladizinsky, G., and Alder, A. 1975.** The origin of chickpea as indicated by seed protein electrophoresis. *Israel Journal of Botany Basic & Applied Plant Sciences* 24: 183-189.
- Mardi, M., Taleei, A. R., and Omid, M. 2003.** A study of genetic diversity and identification of yield components in Desi chickpea. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 34 (2): 345-351 (in Persian).
- Melchinger, A. E. 1993.** Use of RFLP markers for analysis of genetic performance. pp. 621-628. In Buxton, D. R. (ed.) Proceedings of the International Crop Science Congress, 1st, Ames, IA. July 1992, CSSA, Madison, USA.
- Pawell, W., Morganet, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., and Rafalaski, A. 1996.** The comparison of RFLP, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2: 225-238.
- Rao, L. S., Usha Rani, P., Deshmukh, P. S., and Panguluri, S. K. 2007.** RAPD and ISSR fingerprinting in cultivated chickpea (*Cicer arietinum* L.) and its wild

- progenitor *Cicer reticulatum* Ladizinsky. Genetics Resources and Crop Evolution 54: 1235-1244.
- Ray chadhury, P., Tanveer, H., and Dixit, G. P. 2007.** Identification and detection of genetic relatedness among important varieties of pea (*Pisum sativum* L.) grown in India. Genetica 130: 183- 191.
- Sabokdast, M., and Khyalparast, F. 2008.** A study of relationship between grain yield and yield components in Common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural of Resource 11 (42) (A): 123-134 (in Persian).
- Saeed, A., Hovsepian, H., Darvishzadeh, R., Imtiaz, M., Panguluri, S. K., and Nazaryan, R. 2011.** Genetic diversity of Iranian accessions, improved lines of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their wild relatives using simple sequence repeats. Plant Molecular Biology Reporter DOI 10.1007/s11105-011-0294-5.
- Saghai Maroof, M. A., Solima, K. M., Jorgenson, R. A., and Allard, R. W. 1984.** Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 81: 8014-8018.
- Salehi Jozani, G. R., Abd-Mishani, S., Hosseinzadeh, A. H., and Seied Tabatabaei, B. E. 2003.** Genetic diversity analysis of commercial potato cultivars (*Solanum tuberosum*) in Iran using RAPD-PCR technique. Iranian Journal of Agricultural Sciences 34(4): 1021-1029 (in Persian).
- Siahpoosh, M. R., Emam, Y., and Saeidi, A. 2003.** Genotypic variation, heritability, genotypic and phenotypic correlation coefficients of grain yield, its components and some morpho- physiological characters in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Iranian Journal of Field Science 5 (2) 86-98 (in Persian).
- Singh, R. J., Chung, G. H., and Nelson, R. L. 2007.** Landmark research in legumes. Genome 50: 525-537.
- Soltani, A., Ghassemi-Golezani, K., Khooie, F. R., and Moghaddam, M. 1999.** A simple model for chickpea growth and yield. Field Crops Research 62: 213-224.
- Sudupak, M. A., Akkaya, M. S., and Kence, A. 2002.** Analysis of genetic relationships among perennial and annual *Cicer* species growing in Turkey using RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 105: 1220-1228.

- Talebi, R., Fayaz, F., Mardi, M., Pirsyedi, S. M., and Naji, A. M. 2008.** Genetic relationships among chickpea (*Cicer arietinum*) elite lines based on RAPD and agronomic markers. *International Journal of Agriculture and Biology* 10(3): 301-305.
- Taran, B., Zhang, C., Warkentin, T., Tullu, A., and Vandenberg, A. 2004.** Genetic diversity among varieties and wild species accessions of pea (*Pisum sativum* L.) based on molecular markers, and morphological and physiological characters. *Genome* 48: 257-272.
- Tayyar, R. I., and Waines, J. G. 1996.** Genetic relationships among annual species of *Cicer* (Fabaceae) using Isozyme variation. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 245-254.
- Terzopoulos, P. J., and Bebeli, P. J. 2008.** Genetic diversity analysis of Mediterranean faba bean (*Vicia faba* L.) with ISSR markers. *Field Crops Research* 108: 39-44.
- Toker, C. 2003.** Evaluation of yield criteria with phenotypic correlations and factor analysis in chickpea. *Soil and Plant Sciences* 54: 45-48.
- Toker, G., and Cagirgan, M. I. 2004.** The use of phenotypic correlations and factor analysis in determining characters for grain yield selection in chickpea (*cicer arietinum* L.). *Hereditas* 140: 226-228.
- Vairinhos, F., and Murray, D. R. 1983.** The seed protein of chickpea: comparative studies of *Cicer arietinum*, *C. reticulatum* and *C. echinospermum* (Leguminosae). *Plant Systematic and Evolution* 142: 11-22.
- Yazdi-Samadi, B., Peighambari, S. A., and Majnoun-Hosseini, N. 2004.** Evaluation of genetic variation in 90 lentil (*Lens culinaris* M.) genotypes in Karaj region. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 35 (3): 595-601 (in Persian).
- Yucel, D. O., Anlarsal, A. E., and Yucel, C. 2006.** Genetic variability, correlation and path analysis of yield, and yield components in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 30: 183-188.
- Zabet, M., Hoseinzadeh, A. H., Ahmadi, A., and Khyalparast, F. 2005.** A study of variation and comparison of yield and its components under two irrigation conditions in mung bean. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 36 (3): 561-571 (in Persian).