بررسی ایزوزیم‌های استراز و پراکسیداز در جمعیت‌های بومی و اصلاح شده یونجه و ارتباط آن‌ها با صفات زراعی و مورفولوژیکی

مریم احمدی[۱]، مصطفی ولیزاده[۲،*]، محمود تورچی[۲]، محمد مقدم واحد[۲] و حسین محمد زاده جلالی[۱]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز

۲- استاد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۵ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲٤)

چکیده

به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام اصلاح شده و بومی یونجه، ۱۲ رقم یونجه شامل پنج رقم اصلاح شده (کایساری، کدی، رنجر، مسمیر و سی ریور) و هفت رقم بومی (همدانی، قره یونجه، یزدی، تازه کند دیم، شازند، عمو زین‌الدین و رهنانی) از طریق صفات زراعی و نشانگرهای آنزیمی مورد مطالعه قرار گرفتند. تعداد ۳۵ بذر از هر رقم در گلدان‌های مجزا به‌صورت طرح کاملاً تصادفی نامتعادل، کشت شدند. تجزیه واریانس صفات مختلف نشان داد که بین ارقام بومی و اصلاح شده یونجه از لحاظ اکثر صفات اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. در مورد آنزیم‌های استراز و پراکسیداز، داده‌ها بر اساس وجود و عدم وجود نوار آنزیمی (۱ و ۰) در ۱۱ نوار ایزوزیمی پلی‌مورف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. ارقام بومی و اصلاح شده به‌ترتیب با میانگین ۰/۲٤٦ ± ۰/٤۸ و ۰/۱۹۳ ± ۰/۵۱۹ برای شاخص شانون و میانگین ۰/۱۸۱ ± ۰/۳۲۷ و ۰/۱٤۸ ± ۰/۳۵۲ برای شاخص تنوع ژنتیکی نی، تفاوت چشمگیری نشان ندادند. بررسی رابطه‌ی بین داده‌های ایزوزیمی و صفات مورد بررسی نشان داد که بین ایزوزیم POX-٤ و عملکرد تک بوته تر و خشک در ارقام اصلاح شده ارتباط معنی‌دار وجود دارد.

واژگان کلیدی: یونجه، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای ایزوزیمی، چندشکلی

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: **mvalizadeh@tabrizu.ac.ir**

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]

[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

مقدمه

یونجه (*Medicago sativa* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای در دنیا محسوب می‌شود و عقیده بر این است که از نواحی شمال غربی ایران، جنوب قفقاز، شمال شرقی ترکیه و ترکمنستان منشأ گرفته باشد (Michaud *et al.*, 1988). یونجه با دارا بودن ساختار ژنتیکی اتوتتراپلوئیدی (۲n = ٤x = ۳۲) و دگرگشنی، تغییرپذیری زیادی در سطح ژنوم دارد. وجود تغییرپذیری زیاد، شناسایی واریته‌های مختلف را توسط صفات زراعی و مورفولوژیکی مشکل می‌سازد (Corts and Martinez, 2000). مطالعات سیتولوژیکی نشان می‌دهد که یونجه میوز منظم با ١٦ بی‌ولنت و تعداد کمی مولتی‌والنت دارد (McCoy and Bingham, 1988). منابع ژنتیکی، تأمین کننده ژن‌های با ارزشی هستند که در صورت بهره‌برداری صحیح از آن‌ها می‌توان ارقام جدید و مطلوب را تولید کرد. در واقع تنوع ژنتیکی پیش‌نیاز گزینش در برنامه‌های به‌نژادی برای بهبود صفات و تولید ارقام جدید و سازگار می‌باشد (Oleson, 1994; Clegg, 1997). در جمعیت‌های طبیعی، جهش‌های مکرر در یک ژن باعث ایجاد تنوع می‌شوند (Zeidler, 2000). برای ارزیابی تنوع ژنتیکی، نشانگرها عموماً بهتر از داده‌های مورفولوژیکی و شجره‌ای هستند و تنوع ژنتیکی معمولاً توسط فاصله ژنتیکی یا تشابه ژنتیکی اندازه‌گیری می‌شود (Lamkey and Lee, 1993). روش‌های کلاسیک اصلاح‌نباتات به‌تدریج تنوع ژنتیکی را کاهش می‌دهند و این کاهش می‌تواند برای آینده برنامه‌های اصلاحی خطرآفرین باشد (Corts and Martinez, 2000). نشانگرهای مولکولی در زمینه مطالعه تنوع ژنتیکی و روابط بین ژرم‌پلاسم‌ها بسیار مفید هستند و می‌توانند برای شناسایی جمعیت‌های مناطق مختلف مورد استفاده واقع شوند (Veronesi *et al.*, 2003). امروزه نشانگرهای مولکولی متعددی برای برآورد تنوع ژنتیکی وجود دارد ولی الکتروفورز پروتئین‌ها همواره روشی ساده و مرسوم برای برآورد تنوع ژنتیکی در گیاهان به شمار رفته است، زیرا ارتباط آن‌ها با بخش فعال ماده ژنتیکی (ژن‌های ساختاری) بیشتر از اغلب نشانگرهای مبتنی بر DNA است (Corts and Martinez, 2000). از ایزوزیم‌ها می‌توان برای مطالعه ژرم‌پلاسم گیاهان استفاده کرد. تنوع ژنتیکی یا فاصله ژنتیکی از طریق بررسی تنوع آلوزایمی قابل اندازه‌گیری است و تعیین و تشخیص یک جمعیت یا رقم زراعی، شناسایی اختلاف ژنتیکی افراد، تعیین روابط ژنتیکی در داخل گونه‌ها، تجزیه و تحلیل الگوهای مهاجرتی یک گونه از مراکز اولیه از جمله موارد عمده استفاده از ایزوزیم‌ها در مطالعات تنوع ژنتیکی است (Labdi *et al.*, 1996). اولین بار کویروس (Quiros, 1980) از الکتروفورز آنزیم‌های استراز، پراکسیداز، اسیدفسفاتاز و لوسین آمینوپپتیداز با ژل نشاسته برای شناسایی ژنوتیپ‌های یونجه استفاده کرد و گزارش نمود که سه آنزیم اول در برگ بوته‌های مادری الگوی نواربندی متفاوت و قابل شناسایی ایجاد می‌کنند. وی این روش را در سایر گونه‌های یونجه نیز مورد استفاده قرار داد. کالجوند و جاسکا (Kaljund and Jaaska, 2010) نشانگرهای آلوزایمی مولکولی سه ایزوزیم چند شکل را برای تخمین تنوع ژنتیکی وابسته به اندازه جمعیت و درجه دوری، بین نتاج حاصل از بذر در جمعیت‌های یونجه گونه *M. sativa* و گونه‌ی *M. falcata* استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که حتی کوچک‌ترین جمعیت تنوع ژنتیکی بالایی در حدود جمعیتی که صد بار از آن بزرگ‌تر بود را داشت. همچنین تفاوت ژنتیکی جمعیت‌ها به استثنای یک جمعیت دور، در دو گروه اصلی با موقعیت جغرافیایی جمعیت‌ها مرتبط بود. هدف از این پژوهش بررسی میزان تنوع در جمعیت‌های بومی و اصلاح شده یونجه از طریق نشانگرهای ایزوزیمی و ارتباط این نشانگرها با صفات زراعی و مورفولوژیکی بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال ۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در اراضی کرکج واقع در دوازده کیلومتری شرق تبریز اجرا گردید. مواد گیاهی شامل پنج رقم اصلاح شده (کایساری، کدی، رنجر، مسمیر و سی

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

ریور) و هفت رقم بومی (همدانی، قره یونجه، یزدی، تازه کند دیم، شازند، عمو زین‌الدین و رهنانی) بود. طرح به‌صورت کاملاً تصادفی نامتعادل با ۱۲ تیمار انجام شد. جهت اندازه‌گیری صفات گیاهچه‌ای یونجه، ۳۵ گلدان برای هر جمعیت در نظر گرفته شد. ابعاد گلدان‌ها ۲۰×۱۵×۱۵ سانتیمتر بود. در مجموع ٤۲۰ گلدان کشت شدند. خاک گلدان‌ها با نسبت‌های ۱:۱:۲، به‌ترتیب از خاک، کود دامی و ماسه پر شدند. بعد از سبز شدن و استقرار گیاه در گلدان‌ها، اقدام به تنک کردن گیاهچه‌ها شده و در هر گلدان تنها یک بوته برای اندازه‌گیری‌های مزرعه‌ای و بررسی‌های مولکولی باقی می‌ماند. تجزیه‌های ایزوزیمی روی برگ‌های جوان و ساقه اصلی با موقعیت مشخص انجام شد. پس از نمونه‌برداری، نمونه‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد (بر روی یخ) از مزرعه به آزمایشگاه به‌منظور استخراج آنزیم‌ها منتقل شدند. برای استخراج آنزیم‌ها از محلول تریس (۱۲۰ میلی‌مولار)، ساکارز (۵ درصد)، اسید آسکوربیک (۵۰ میلی‌مولار)، سدیم متابی‌سولفیت (۲۰ میلی‌مولار) و PEG¬٦۰۰۰ (۲ درصد) با pH = ۷/۵ استفاده شد. قبل از استخراج، به محلول فوق ۲–مرکاپتواتانول به مقدار ۰/۱ درصد اضافه شد. بدین منظور برگ‌ها با نسبت ۵:۱ از بافر استخراج به خوبی هموژنیزه شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند (Valizadeh *et al.*, 2011). ژل‌های اکریل‌آمید افقی به ضخامت ٦ میلی‌متر و غلظت ۷ درصد با استفاده از محلول پولیک با عرض ۱۰ و طول ۲۰ سانتی‌متر تهیه شدند. پس از بارگذاری در مخزن، الکتروفورز با بافر تریس ۳۲ میلی‌مولار، اسید بوریک ۰/٦ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و pH =۸/ ۸ صورت گرفت. ولتاژ منبع الکتریسیته روی ۱۹٦ ولت تنظیم شد. بعد از حدود ٤–۵ ساعت حرکت آبی بروموفنول از محل نمونه‌ها به نزدیک ۸ سانتی‌متر رسید. بعد از پایان الکتروفورز، ژل صفحه‌ای توسط سیم برشی از پهنا برش داده شد تا هر لایه از ژل برای یکی از آنزیم‌ها رنگ‌آمیزی شود. جهت رنگ‌آمیزی ژل از روش کار سولتیس و سولتیس (Soltis and Soltis, 1990) استفاده شد و سپس توسط دوربین دیجیتالی از ژل‌ها عکس‌برداری شد. الگوهای آنزیمی در جمعیت‌های یونجه به‌صورت وجود نوار پروتئینی (امتیاز یک) و عدم وجود (امتیاز صفر) یادداشت گردید. فراوانی‌های ایزوزیمی به‌صورت صفر و یک در جمعیت‌های مورد مطالعه محاسبه شد. میانگین هتروزیگوتی مورد انتظار با فرض تعادل (H_e) به شرح زیر برآورد گردید. میزان هتروزیگوتی از طریق $H_e = 1 - \sum p_i^2$ برآورد شد که در آن Pi فراوانی آلل i در یک مکان ژنی در یک جمعیت است. تعداد آلل‌های مؤثر از طریق فرمول $\hat{n}_e = \frac{1}{1-\hat{H}}$ برآورد شد که در آن $\hat{H}$ میزان هتروزیگوسی مورد انتظار است (Hedrick, 2005). شاخص تنوع ژنتیکی نی به‌صورت $H_s = \frac{1}{k}.\sum_{s=1}^{k} H_{Ss} = \frac{1}{k}.\sum_{s=1}^{k}\left[1 - q_s^2 - (1-q_s)^2\right]$ برآورد شد (Nei, 1973) که در آن k تعداد مکان‌های ژنی و q_s فراوانی آلل مشهود است. شاخص تنوع ژنتیکی شانون به‌صورت $H = -\sum_{i=1}^{s} p_i \ln(p_i)$ برآورد شد که در آن H شاخص شانون، pi فراوانی جمعیت iام می‌باشد، تعیین فاصله و شباهت بین جمعیت‌ها با استفاده از ضریب فاصله و شباهت نی انجام شد. برای محاسبات فوق از نرم‌افزارهای POPGENE V 1.31 (Yeh *et al.*, 1999) و Excel V 2007 استفاده شد. صفات وزن هزاردانه، تاریخ گلدهی، ارتفاع گیاه، تعداد ساقه فرعی، تعداد میانگره در زمان گلدهی، طول و عرض برگ لپه‌ای، فاصله‌ی برگ لپه‌ای از سطح خاک، طول اولین میانگره، طول دمبرگ اولین سه برگچه، وزن تر در زمان گلدهی، وزن خشک بوته، نسبت برگ به ساقه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند و بر روی داده‌ها بر اساس طرح پایه کاملاً تصادفی تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن توسط SPSS V17 انجام شد. اکثر صفات زراعی در دو چین اندازه‌گیری شدند و برای صفاتی غیر از عملکرد و

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

تاریخ گلدهی، میانگین دو چین، برای صفات عملکرد مجموع دو چین و برای تاریخ گلدهی داده‌های هر چین جهت تجزیه واریانس و سایر برآوردها مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی ارتباط نوارهای آنزیمی و صفات مختلف از تجزیه واریانس استفاده شد به این ترتیب که افراد دارای باند در یک گروه و افراد فاقد باند در گروه دیگر و داده‌های صفات مختلف این دو گروه که برای هر فرد مشخص بود توسط SPSS V17 مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند.

نتایج و بحث

در مورد صفات زراعی و مورفولوژیکی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ۱۲ جمعیت یونجه برای کلیه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). با توجه به هتروزیگوسیتی زیاد و دگرگشنی قابل توجه در یونجه، تنوع زیاد صفات مورد انتظار می‌باشد (Veronesi *et al.*, 2010). عبدالهی (Abdollahi, 2013) آزمایشی به‌منظور تعیین تنوع ژنتیکی ۱۱۰ ژنوتیپ متعلق به ۱۱ جمعیت مختلف یونجه زراعی با استفاده از ۱۳ صفت مورفولوژیک انجام داد که جمعیت‌ها از نظر صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد نشان دادند. تجزیه واریانس صفات مختلف در جمعیت‌های بومی و اصلاح شده نشان داد که اختلاف معنی‌دار بین دو جمعیت در رابطه با صفات تعداد ساقه فرعی، طول اولین میانگره، طول اولین دمبرگ و نسبت وزن خشک برگ به ساقه در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۲). از نظر مقایسه میانگین‌های صفات مورد بررسی، جمعیت همدانی بیشترین ارتفاع بوته را داشت ولی اختلاف آن با جمعیت‌های تازه کند و رهنانی معنی‌دار نبود. جمعیت یزدی از تعداد ساقه فرعی، وزن تر، وزن خشک، وزن خشک برگ و نسبت وزن خشک برگ به ساقه بیشتری برخوردار بود و اختلاف آن با بقیه جمعیت‌ها معنی‌دار به‌دست آمد. جمعیت تازه کند دیم تعداد میانگره بیشتری داشت. جمعیت رهنانی به‌طور معنی‌دار عرض برگ لپه، طول برگ لپه، ارتفاع برگ لپه از خاک، طول اولین میانگره و طول اولین دمبرگ بیشتری داشت. هرچند که جمعیت‌های اصلاح شده وزن هزاردانه، تاریخ گلدهی چین دوم، وزن تر، وزن خشک، وزن خشک ساقه، وزن خشک برگ، نسبت وزن خشک برگ به ساقه بیشتری نسبت به جمعیت‌های بومی داشتند ولی این اختلافات ناچیز بود و معنی‌دار نشد (جدول ۳). زای و موسجیدیس (Xie and Mosjidis, 1995) اظهار داشتند که ارتباط اغلب صفات گیاهچه‌ای و صفات گیاه بالغ در شبدر قرمز ضعیف است ولی گزینش ۱۰ درصد گیاهچه‌های برتر برای طول دمبرگ، روزهای جوانه‌زنی تا نمو کامل چهارمین برگ یا برگ‌های گیاهچه می‌تواند علوفه خشک انفرادی گیاهان و در نهایت عملکرد سالانه را افزایش دهد. ارتباط صفات گیاهچه‌ای با عملکرد گیاه بالغ توسط محققین متعددی گزارش شده است (Bouton, 1982; Simons, 1990; Xie and Mosjidis, 1995). در مورد بررسی‌های ایزوزیمی، نام‌گذاری ۱۱ ایزوزیم متفاوت چندشکل نشان داده شده است (شکل‌های ۱ و ۲). فراوانی ایزوزیم‌های چند شکل بر اساس امتیازهای ۱ (برای حضور) و صفر (برای عدم حضور) درج شده است (جدول ٤). ملاحظه می‌شود که ارقام بومی برای همه ۱۱ نشانگر ایزوزیمی مورد مطالعه پلی‌مورفیسم نشان دادند در حالی که ارقام اصلاح‌شده در ۱۰ نشانگر ایزوزیمی چندشکلی داشتند. همچنین فراوانی آلل‌های صفر و یک در ٦ نشانگر ایزوزیمی حالت بینابین‌تری در ارقام بومی داشتند در حالی که در ارقام اصلاح شده ۵ نشانگر فراوانی بینابین‌تری داشتند. از آنجا که همه شاخص‌های تنوع ژنتیکی مانند هتروزیگوسی مورد انتظار، شاخص شانون، تعداد آلل مؤثر، ... بر اساس فراوانی آللی است (Hartl and Clark, 1989)، بنابراین می‌توان پذیرفت که تنوع ایزوزیمی در جمعیت‌های بومی اندکی بیشتر از ارقام اصلاح شده است. ایزوزیم EST-۲ بیشترین دامنه تغییرات را از نظر فراوانی در جمعیت‌های مورد مطالعه دارا بود (جدول ٤). هتروزیگوسی مورد انتظار از طریق ضریب نی در هر جمعیت برآورد شد.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

جدول۱- تجزیه واریانس صفات مختلف در ۱۲ جمعیت یونجه

Table 1. Analysis of variance in 12 populations of alfalfa for all traits

منابع تغییرات Sources of variation	صفات Traits												
	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	تعداد ساقه فرعی (عدد) Accessorial stem No.	تعداد میانگره (عدد) Internode No.	عرض برگ لپه‌ای (میلی‌متر) Cotyledon leaf width (mm)	طول برگ لپه ای (میلی‌متر) Cotyledon leaf length (mm)	ارتفاع برگ لپه از خاک (میلی‌متر) Cotyledon leaf height from soil (mm)	طول اولین میان گره (میلی‌متر) First internode length (mm)	طول اولین دمبرگ (سانتی‌متر) First petiole length (cm)	وزن تر (گرم) Wet weight (gr)	وزن خشک (گرم) Dry weight (gr)	وزن خشک ساقه (گرم) Dry weight of stem (gr)	وزن خشک برگ (گرم) Dry weight of leaf (gr)	نسبت وزن خشک برگ به ساقه (گرم) Dry weight of leaf to stem ratio (gr)
درجه آزادی تیمار Degree freedom of treatment	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
درجه آزادی خطا Degree freedom of error	359	358	358	390	390	390	353	351	355	355	355	355	355
میانگین مربعات بین جمعیت‌ها (تیمار) Mean square of treatment	1204.99**	19.30**	5.48**	4.95**	27.01**	19.57**	675.36**	2.05**	19.46**	158.56**	0.49ns	50.19**	0.04**
میانگین مربعات داخل جمعیت‌ها (خطا) Mean square of error	122.99	4.09	2.25	0.47	2.30	7.42	236.05	0.37	3.93	42.64	0.42	13.25	0.005

برای تعداد ساقه فرعی و وزن تر تبدیل داده از نوع جذری، برای وزن خشک ساقه از نوع معکوس و برای نسبت وزن خشک برگ به ساقه از نوع Arctan انجام شد.

The squre-root transforamtion for wet weight and No. of auxiliary stems, the inverse transformation for dry weight nad the ArcSin transformation for dry weight of leaf to stem ratio were done for mention data.

ns و ** به‌ترتیب بیانگر غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

ns and **: non-significant and significant at 0.01, respectively.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مختلف برای مقایسه جمعیت‌های بومی با جمعیت‌های اصلاح شده یونجه

Table 2. Analysis of variance for all traits to compare landrace and breeding lines populations

منابع تغییرات Sources of variation	صفات Traits												
	ارتفاع بوته (سانتی متر) Plant height (cm)	تعداد ساقه فرعی (عدد) Accessorial stem No.	تعداد میانگره (عدد) Internode No.	عرض برگ لپه ای (میلی متر) Cotyledon leaf width (mm)	طول برگ لپه ای (میلی متر) Cotyledon leaf length (mm)	ارتفاع برگ لپه از خاک (میلی متر) Cotyledon leaf height from soil (mm)	طول اولین میان گره (میلی متر) First internode length (mm)	طول اولین دمبرگ (سانتی متر) First petiole length (cm)	وزن تر (گرم) Wet weight (gr)	وزن خشک (گرم) Dry weight (gr)	وزن خشک ساقه (گرم) Dry weight of stem (gr)	وزن خشک برگ (گرم) Dry weight of leaf (gr)	نسبت وزن خشک برگ به ساقه (گرم) Dry weight of leaf to stem ratio (gr)
درجه آزادی تیمار Degree freedom of treatment	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
درجه آزادی خطا Degree freedom of error	369	368	368	400	400	400	363	361	365	365	365	365	365
میانگین مربعات بین جمعیت‌ها (تیمار) Mean square of treatment	149.7 ns	56.51 **	0.54 ns	1.91 ns	5.31 ns	1.21 ns	4454.91 **	2.68 **	5.54 ns	73.94 ns	1.45 ns	47.31 ns	0.04 **
میانگین مربعات داخل جمعیت‌ها (خطا) Mean square of error	155.18	4.40	2.35	0.59	2.97	7.73	237.74	0.41	4.44	46.05	0.42	14.27	0.006

برای تعداد ساقه فرعی و وزن تر تبدیل داده از نوع جذری، برای وزن خشک ساقه از نوع معکوس و برای نسبت وزن خشک برگ به ساقه از نوع Arctan انجام شد.

The squre-root transforamtion for wet wight and No. of auxiliary stems, the inverse transformation for dry wight nad ArcSin transformation were done for mention data.

ns و ** به‌ترتیب بیانگر غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

ns and **: non-significant and highly significant at 0.01, respectively.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

جدول ۳- میانگین صفات بررسی شده در جمعیت‌های یونجه مورد مطالعه

Table 3. Mean of traits in all populations of alfalfa

Population جمعیت	وزن هزار دانه (گرم) 1000 kernel weight (gr)	تاریخ گلدهی چین اول (روز) Flowering data 1(day)	تاریخ گلدهی چین دوم (روز) Flowering data 2(day)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	تعداد ساقه فرعی (عدد) Accessorial stem No	تعداد میانگره (عدد) Internode No.	عرض برگ لپه ای (میلی‌متر) Cotyledon leaf width (mm)	طول برگ لپه ای (میلی‌متر) Cotyledon leaf length (mm)	ارتفاع برگ لپه از خاک (میلی‌متر) Cotyledon leaf height f rom soil (mm)	طول اولین میان گره (میلی‌متر) First internode length (mm)	طول اولین دمبرگ (سانتی‌متر) First petiole length (cm)	وزن تر (گرم) Wet weight (gr)	وزن خشک (گرم) Dry weight (gr)	وزن خشک ساقه (گرم) Dry weight of stem (gr)	وزن خشک برگ (گرم) Dry weight of leaf (gr)	نسبت وزن خشک برگ به ساقه (گرم) Dry weight of leaf to stem ratio (gr)
Gharayonje قره یونجه	1.59j	31b	29b	29.49d	4.76de	6.03bc	3.51bc	7.41bcd	6.06bc	48.65ab	1.66ab	4.25c	5.21c	0.27a	3.32d	1.29a
Amozeynedin عمو زین‌الدین	1.36l	32a	29b	41.09bc	4.75de	6.53bc	3.19cd	6.93d	5.64bc	47.31abc	1.48bc	5.96b	9.95b	0.06ab	5.57c	1.22cde
Rahnani رهنانی	2.80a	31b	29b	50.36a	6.57ab	7.17ab	4.54a	10.31a	8.21a	49.76a	1.94a	6.89ab	12.94ab	0.14ab	7.11abc	1.19de
Tazekand تازه کند دیم	1.45k	31b	29b	50.75a	6.06bc	7.61a	3.38bcd	7.33bcd	6.52bc	40.65abcd	1.92a	7.04ab	12.50ab	0.02ab	6.94abc	1.19 e
Shazand شازند	1.67i	31b	29b	46.77ab	5.67bcd	7.03ab	3.3bcd	7.19cd	6.43bc	42.66abcd	1.34bcd	6.63b	11.06b	0.18ab	6.30bc	1.22bcde
Hamedani همدانی	2.05e	32a	30a	51.28a	5.29cde	7.09ab	3.47bc	7.81bc	6.90abc	46.43abc	1.11d	6.21ab	10.15ab	0.05b	5.85bc	1.22bcde
Yazdi یزدی	1.87h	31b	29b	43.69bc	7.18a	6.94ab	3.36bcd	8.06b	6.36bc	43.24abcd	1.52bc	6.53a	13.32a	0.09ab	7.94a	1.24a
Kaysari کایساری	1.92g	31b	29b	47.06ab	4.32e	6.59bc	3.53bc	8.06b	7.16ab	41.93abcd	1.57bc	6.49ab	11.25ab	0.05b	6.62bc	1.25cde
Renger رنجر	2.08d	31b	29b	43.55bc	5.56bcd	7.07ab	3.28bcd	7.36bcd	6.56bc	36.36d	1.28cd	6.55ab	10.29ab	0.13ab	6.05ab	1.22bcd
Kadi کدی	1.95f	31b	29b	43.81bc	4.97cde	6.6bc	3.01d	7.17 cd	5.47c	35.65d	1.27cd	6.76ab	11.36ab	0.00ab	6.92abc	1.29abc
Mesmir مسمیر	2.21c	31b	30a	43.42bc	4.87de	6.74abc	3.57b	7.82bc	6.07bc	40.03bcd	1.30bcd	7.41ab	14.13ab	0.02ab	8.68abc	1.28a
Sea river سی ریور	2.36b	32a	30a	39.65c	4.71de	7.19ab	3.63b	7.72bcd	7.19ab	38.62cd	1.47bc	6.09b	10.29ab	0.06ab	6.20bc	1.27ab
Landraces بومی	1.83	31.29	29.14	44.78	5.75a	6.91	3.54	7.86	6.59	45.53a	1.57a	6.25	10.48	0.05	6.04	1.23b
Improved اصلاح شده	2.10	31.2 0	29.40	43.50	4.89b	6.84	3.40	7.63	6.49	38.52b	1.38b	6.50	11.39	0.08	6.76	1.25a

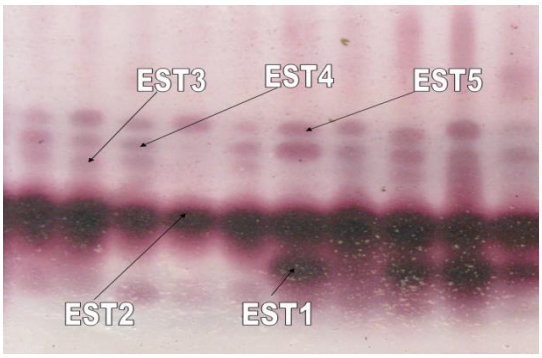
حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

Diffrent words mean significat at 5 % probability level.

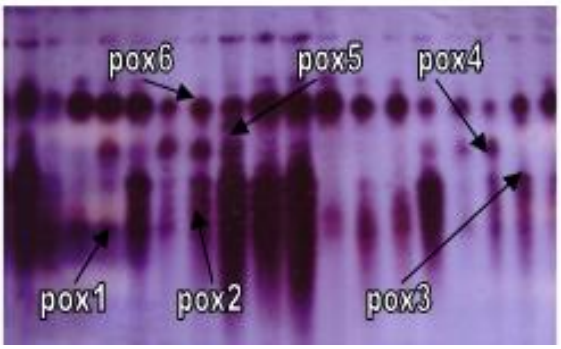
[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]

[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]



شکل ۱- نام‌گذاری ایزوزیم‌های چند شکل استراز
Figure 1. Naming of polymorphic esterase isozymes



شکل ۲- نام‌گذاری ایزوزیم‌های چندشکل پراکسیداز
Figure 2. Naming of polymorphic proxidase isozymes

و میانگین شاخص‌های تنوع ژنتیکی به‌دست آمد و نتایج نشان داد که رقم کدی شاخص‌های تنوع بالاتری نسبت به ارقام دیگر داشت. جمعیت‌های اصلاح شده با دارا بودن مقدار ۰/۵۱۹ برای شاخص شانون و مقدار ۰/۳۵۲ برای تنوع ژنتیکی نی، تفاوت چشمگیری نسبت به جمعیت‌های بومی نشان ندادند. می‌توان نتیجه گرفت این دو نوع جمعیت تفاوت قابل توجهی با یکدیگر نداشتند (جدول ۵). ولیزاده و همکاران (Valizadeh *et al.*, 2011) برای بررسی تنوع درون و بین ارقام یونجه از الکتروفورز آنزیم‌ها استفاده کردند، پنج سیستم آنزیمی و حدود ۱۰۰ گیاهچه ۱۰ روزه را مورد بررسی قرار دادند که سه مکان ژنی ایزوزیم تشخیص داده شد و سطح بالایی از هتروزیگوسی (بین ۰/۵۲۱ تا ۰/۶۹۹) را در درون جمعیت‌های یونجه به‌دست آوردند. منگونی و همکاران (Mengoni *et al.*, 2000) سطح بالایی از تنوع را درون و بین جمعیت‌های یونجه زراعی به‌وسیله نشانگرهای SSR و RAPD شناسایی کردند، آن‌ها دلیل این تنوع را دگرگرده‌افشانی و ساختار تتراپلوئیدی یونجه ذکر کردند. فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها از طریق فرمول نی محاسبه شد که کمترین فاصله متعلق به ارقام تازه کند دیم و قره یونجه است و بیشترین فاصله متعلق به ارقام یزدی و کدی است. در کل می‌توان فاصله ژنتیکی بسیار پایین بین ارقام و جمعیت‌های یونجه را به ساختار ژنتیکی بسیار هتروزیگوت و وراثت تتراسومیک یونجه نسبت داد. فاصله ژنتیکی ارقام اصلاح شده و بومی نیز ۱ درصد بود، بنابراین ارقام بومی و اصلاح شده حدود ۹۹ درصد به یکدیگر شباهت دارند (جدول ٦). توکاک و همکاران (Tucak *et al.*, 2008) از نشانگر RAPD برای مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی و صفات مورفولوژیکی در یونجه استفاده کردند و فاصله ژنتیکی در بین ارقام و جمعیت‌ها را بین ۰/۲۸ و ۰/٤۰ به‌دست آوردند. از نظر ارتباط نوارهای ایزوزیمی و صفات مورد بررسی در جمعیت‌های بومی، ایزوزیم EST-۱ با صفت طول اولین دمبرگ در ارتباط است و وجود این نوار باعث کاهش طول اولین دمبرگ شده است. ایزوزیم POX-۱ با صفات ارتفاع برگ لپه از خاک و نسبت وزن خشک برگ به ساقه ارتباط دارد که در رابطه با صفت ارتفاع برگ لپه از خاک وجود این نوار باعث کاهش این صفت و در رابطه با صفت نسبت وزن خشک برگ به ساقه وجود این نوار باعث افزایش این صفت شده است. ایزوزیم POX-۳ با صفت عرض برگ لپه‌ای ارتباط دارد و وجود این نوار باعث کاهش این صفت شده است. ایزوزیم POX-۵ با صفت تعداد میانگره ارتباط دارد و وجود این نوار باعث افزایش این صفت شده است. سایر نوارها ارتباط معنی‌داری با صفات نشان ندادند. در مورد جمعیت‌های اصلاح شده ایزوزیم EST-۱ با صفت تعداد ساقه فرعی ارتباط دارد و وجود این نوار باعث افزایش این صفت شده است. ایزوزیم POX-۲ با صفت وزن خشک برگ ارتباط معنی‌داری دارد و وجود این نوار باعث افزایش این صفت شده است. ایزوزیم POX-۳ با صفت تعداد ساقه فرعی ارتباط معنی‌دار داشت و وجود این نوار باعث کاهش این صفت شده است. ایزوزیم POX-٤ با صفات ارتفاع بوته، تعداد میانگره، وزن تر بوته، وزن خشک بوته، وزن خشک ساقه و وزن خشک برگ ارتباط نشان داد و در همه موارد وجود نوار باعث افزایش این صفات شد.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

جدول ٤- فراوانی ایزوزیم‌ها در جمعیت‌های یونجه

Table 4. Frequency of isozymes in alfalfa populations

ایزوزیم‌ها Isozymes		قره یونجه Gharayonje	عمو زین‌الدین Amozeynedin	رهنانی Rahnani	تازه کند Tazekand	شازند Shazand	همدانی Hamedani	یزدی Yazdi	کایساری Kaysari	رنجر Renger	کدی Kadi	مسمیر Mesmir	سی ریور Sea river	بومی Landraces	اصلاح شده Improved	میانگین Mean
EST1	0	0.85	0.84	0.78	0.88	0.77	0.71	0.86	0.79	0.75	0.74	0.83	0.90	0.83	0.78	0.81
	1	0.15	0.16	0.22	0.12	0.23	0.29	0.14	0.21	0.25	0.26	0.17	0.10	0.17	0.22	0.19
EST2	0	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.05	0.01	0.00	0.02
	1	1.00	0.94	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.86	1.00	0.95	0.99	1.00	0.98
EST3	0	0.74	0.73	0.71	0.67	0.42	0.32	0.71	0.66	0.41	0.52	0.90	0.85	0.66	0.53	0.64
	1	0.26	0.27	0.29	0.33	0.58	0.68	0.29	0.34	0.59	0.48	0.10	0.15	0.34	0.47	0.36
EST4	0	0.52	0.34	0.47	0.47	0.54	0.67	0.38	0.35	0.24	0.37	0.30	0.58	0.48	0.56	0.44
	1	0.48	0.66	0.53	0.53	0.46	0.33	0.62	0.65	0.76	0.63	0.70	0.42	0.52	0.44	0.56
EST5	0	0.60	0.64	0.67	0.71	0.84	0.74	0.46	0.83	0.75	0.74	0.64	0.58	0.70	0.63	0.68
	1	0.40	0.36	0.33	0.29	0.16	0.26	0.54	0.17	0.25	0.26	0.36	0.42	0.30	0.37	0.32
PRX1	0	0.20	0.52	0.52	0.35	0.62	0.36	0.38	0.67	0.37	0.60	0.42	0.58	0.47	0.36	0.47
	1	0.80	0.48	0.48	0.65	0.38	0.64	0.62	0.33	0.63	0.40	0.58	0.42	0.53	0.64	0.53
PRX2	0	0.71	0.60	0.48	0.65	0.44	0.63	0.53	0.48	0.56	0.56	0.63	0.65	0.58	0.60	0.58
	1	0.29	0.40	0.52	0.35	0.56	0.37	0.47	0.52	0.44	0.44	0.37	0.35	0.42	0.40	0.42
PRX3	0	0.76	0.74	0.88	0.84	0.88	0.72	0.76	0.77	0.85	0.90	0.72	0.79	0.83	0.73	0.80
	1	0.24	0.26	0.12	0.16	0.12	0.28	0.24	0.23	0.15	0.10	0.28	0.21	0.17	0.27	0.20
PRX4	0	0.58	0.48	0.56	0.61	0.62	0.69	0.38	0.64	0.52	0.85	0.59	0.58	0.57	0.60	0.59
	1	0.42	0.52	0.44	0.39	0.38	0.31	0.62	0.36	0.48	0.15	0.41	0.42	0.43	0.40	0.41
PRX5	0	0.89	0.95	0.85	0.87	0.98	0.91	0.93	0.88	0.83	0.80	0.86	0.87	0.91	0.92	0.88
	1	0.11	0.05	0.15	0.13	0.02	0.09	0.07	0.12	0.17	0.20	0.14	0.13	0.09	0.08	0.12
PRX6	0	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	0.00	0.21	0.01	0.06	0.03
	1	1.00	0.91	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.95	0.95	1.00	0.79	0.99	0.94	0.97

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]

[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

جدول ۵- میانگین شاخص‌های تنوع ژنتیکی کلیه‌ی جمعیت‌های یونجه از لحاظ تمام ایزوزیم‌ها

Table 5. Means of genetic diversity indices for all isozymes in all populations of alfalfa

ژرم‌پلاسم Germplasm	جمعیت	Population	تعداد نمونه No. of samples	تعداد آلل‌های مؤثر No. of effective allels	تنوع ژنتیکی نی Nei's genetic diversity	شاخص شانون Shanon index
بومی landraces	قره یونجه	Gharayonje	23	1.5299 ± 0.3569	0.3090 ± 0.1800	0.4584 ± 0.2508
	عمو زین‌الدین	Amozeynedin	20	1.6744 ± 0.2804	0.3846 ± 0.1220	0.5647 ± 0.1477
	رهنانی	Rahnani	20	1.5985 ± 0.3950	0.3320 ± 0.1923	0.4830 ± 0.2638
	تازه کند دیم	Tazekand	21	1.5472 ± 0.3693	0.3139 ± 0.1858	0.4631 ± 0.2566
	شازند	Shazand	22	1.5369 ± 0.4161	0.2991 ± 0.2070	0.4386 ± 0.2828
	همدانی	Hamedani	22	1.5665 ± 0.3338	0.3268 ± 0.1812	0.4784 ± 0.2557
	یزدی	Yazdi	14	1.5836 ± 0.3937	0.3247 ± 0.1963	0.4733 ± 0.2687
اصلاح شده Improved	کایساری	Kaysari	19	1.5455 ± 0.3478	0.3170 ± 0.1790	0.4679 ± 0.2508
	رنجر	Renger	20	1.6183 ± 0.3088	0.3576 ± 0.1453	0.5265 ± 0.1973
	کدی	Kadi	22	1.6736 ± 0.2704	0.3869 ± 0.1075	0.5700 ± 0.1223
	مسمیر	Mesmir	23	1.5408 ± 0.3677	0.3112 ± 0.1861	0.4597 ± 0.2570
	سی ریور	Sea river	23	1.6847 ± 0.3064	0.3866 ± 0.1206	0.5684 ± 0.1361
	بومی	Landraces	20	1.577 ± 0.364	0.327 ± 0.181	0.48 ± 0.247
	اصلاح شده	Improved	21	1.612 ± 0.872	0.352 ± 0.148	0.519 ± 0.193

جدول ٦- فاصله ژنتیکی نی از طریق داده‌های ایزوزیمی در جمعیت‌های یونجه

Table 6. Nei's genetic distance based on isozyme data in all populations of alfalfa

جمعیت	Population	قره یونجه Gharayonje	عمو زین‌الدین Amozeynedin	رهنانی Rahnani	تازه کند Tazekand	شازند Shazand	همدانی Hamedani	یزدی Yazdi	کایساری Kaysari	رنجر Renger	کدی Kadi	مسمیر Mesmir
عمو زین‌الدین	Amozeynedin	0.036										
رهنانی	Rahnani	0.025	0.025									
تازه کند دیم	Tazekand	0.007	0.027	0.010								
شازند	Shazand	0.050	0.030	0.011	0.024							
همدانی	Hamedani	0.058	0.049	0.020	0.030	0.016						
یزدی	Yazdi	0.046	0.036	0.033	0.028	0.035	0.035					
کایساری	Kaysari	0.081	0.042	0.048	0.052	0.041	0.046	0.049				
رنجر	Renger	0.039	0.070	0.041	0.029	0.050	0.024	0.042	0.065			
کدی	Kadi	0.018	0.023	0.017	0.015	0.026	0.061	0.047	0.070	0.072		
مسمیر	Mesmir	0.019	0.024	0.018	0.020	0.041	0.055	0.040	0.091	0.062	0.018	
سی ریور	Sea river	0.058	0.024	0.050	0.052	0.065	0.083	0.079	0.058	0.099	0.052	0.061
بومی در مقابل اصلاح شده	Landraces vs. Improved	0.010										

جدول ۷- ارتباط معنی‌دار بین میانگین صفات بررسی شده و نوارهای آنزیمی در جمعیت‌های بومی و اصلاح شده

Table 7. Significant relation between mean of traits and enzymes bands in landraces and improved populations

جمعیت Population	ایزوزیم‌ها Isozymes		صفات / Traits: ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	تعداد ساقه فرعی (عدد) Accessorial stem No.	تعداد میانگره (عدد) Internode No.	عرض برگ لپه ای (میلی‌متر) Cotyledon leaf width (mm)	ارتفاع برگ لپه از خاک (میلی‌متر) Cotyledon leaf height from soil (mm)	طول اولین دمبرگ (سانتی‌متر) First petiole length (cm)	وزن تر (گرم) Wet weight (gr)	وزن خشک (گرم) Dry weight (gr)	وزن خشک ساقه (گرم) Dry weight of stem (gr)	وزن خشک برگ (گرم) Dry weight of leaf (gr)	نسبت وزن خشک برگ به ساقه (گرم) Dry weight of leaf to stem ratio (gr)
بومی Landrace	EST-1	0	-	-	-	-	-	1.65	-	-	-	-	-
		1	-	-	-	-	-	1.31	-	-	-	-	-
	pox-1	0	-	-	-	-	7.94	-	-	-	-	-	0.12
		1	-	-	-	-	6.74	-	-	-	-	-	0.17
	pox-3	0	-	-	-	3.7	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	-	-	3.4	-	-	-	-	-	-	-
	pox-5	0	-	-	6.88	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	-	7.54	-	-	-	-	-	-	-	-
اصلاح شده Improved	EST-1	0	-	4.59	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	5.37	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	pox-2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.38	-
		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.47	-
	pox-3	0	-	5.21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	4.34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	pox-4	0	41.45	-	6.47	-	-	-	4.18	2.06	1.31	0.37	-
		1	45.49	-	7.19	-	-	-	4.73	2.38	1.51	0.49	-

-: عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

برای صفات طول برگ لپه‌ای و طول اولین میان‌گره عدم وجود اختلاف معنی‌دار در کلیه نوارها.

-: No significant different.

No significant different in cotyledon leaf length and first internode length traits for all strips.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]

[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

سایر نوارها ارتباط معنی‌داری با صفات نشان ندادند. همان‌طور که مشاهده می‌شود برخی نوارهای آنزیم استراز با صفات ظاهری گیاه نظیر طول اولین دمبرگ و تعداد ساقه فرعی ارتباط دارند در حالی که برخی نوارهای آنزیم پراکسیداز با صفات مرتبط با عملکرد نظیر وزن تر، وزن خشک، وزن خشک ساقه،... ارتباط دارند. از این ارتباط می‌توان نتیجه گرفت گیاهانی که آنزیم پراکسیداز بالایی دارند عملکرد بالایی دارند (جدول ۷). بولیتا و همکاران (Bullitta *et al.*, 1994) ٤٥ نمونه از ژرم‌پلاسم *Medicago polymorpha* L. را از نظر تنوع در صفات مورفولوژیکی، آگرونومیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار دادند. تنوع ژنتیکی این ٤٥ جمعیت با ۱۲ سیستم آنزیمی مختلف با ژل نشاسته مورد مطالعه قرار گرفت. ۷ مکان ژنی مربوط به EST، ACP، GOT، LAP، MDH و PGI پلی‌مورفیسم نشان دادند، رابطه صفات زراعی و مورفولوژیکی با نشانگرهای آنزیمی بررسی گردید، در این بررسی معلوم شد که فقط مکان ژنی GOT-۲ همبستگی مثبت و معنی‌داری با برخی از صفات زراعی مانند طول برگچه، تعداد مارپیچ‌های نیام و وزن هزاردانه دارد. ون و جین (Van-Xuan and Jin, 2011) در بررسی ارتباط بین صفات زراعی و آنزیم استراز در نسل F_2 حاصل از تلاقی دو رقم برنج، تعدادی آنزیم مرتبط با صفات عملکرد و اجزای عملکرد در برنج گزارش کردند. سینق و همکاران (Singh *et al.*, 2009) گزارش کردند که حرکت نسبی نوارهای پراکسیداز و استراز با ارتفاع بوته در ارتباط است.

References

Abdollahi, B. (2013). Study of genetic diversity in some populations of cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) using morphological traits. *Modern Genetic*, **7**: 381-388 (In Persian).

Bouton, J. (1982). Seedling characteristics to predict yield and total N of mature alfalfa plants. *Crop Science*, **22**: 128-130.

Bullitta, S., Floris, R., Hayward, M., Loi, A., Porqueddu, C. and Veronesi, F. (1994). Morphological and biochemical variation in Sardinian populations of *Medicago polymorpha* L. suitable for rainfed Mediterranean conditions. *Euphytica*, **77**: 263-268.

Clegg, M. (1997). Plant Genetic Diversity and the Struggel to Measure Selection. *Journal of Heredity*, **88**: 1-7.

Corts, M.M. and Martinez, M.C. (2000). Variation of PGM and IDH isozymes for identification of alfalfa varieties. *Euphytica*, **112**: 137-143.

Hartl, D.L. and Clark, A.G. (1989). *Principles of population genetics*, 2nd edn, Sinauer associates, Massachusetts, USA.

Hedrick, P.W. (2005). *Genetics of populations*, 3th edn, Jones and Bartlett Publishers, Massachusetts, USA.

Kaljund, K. and Jaaska, V. (2010). No loss of genetic diversity in small and isolated populations of "*Medicago sativa* "subsp. *falcata*". *Biochemical Systematics and Ecology*, **38**: 510-520.

Labdi, M., Robertson, L., Singh, K. and Charrier, A. (1996). Genetic diversity and phylogenetic relationships among the annual Cicer species as revealed by isozyme polymorphism. *Euphytica*, **88**: 181-188.

Lamkey, K. and Lee, M. (1993). Quantitative genetics, molecular markers, and plant improvement. Paper presented at the *Focused plant improvement: Towards responsible and sustainable agriculture Proc 10th Australian Plant Breeding Conf, Gold Coast*.

McCoy, T.J. and Bingham, E.T. (1988). Cytology and cytogenetics of alfalfa In: *Alfalfa and Alfalfa improvement* (Hanson, A., Barnes, D. and Hill, R., Eds.) pp. 737-776, Agron, Monograph 29, Madison, USA.

Mengoni, A., Gori, A. and Bazzicalupo, M. (2000). Use of RAPD and microsatellite (SSR) variation to assess genetic relationships among populations of tetraploid alfalfa, *Medicago sativa*. *Plant Breeding*, **119**: 311-317.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

Michaud, R., Lehman, W. and Rumbaugh, M. (1988). World distribution and historical development In: *Alfalfa and alfalfa improvement* (Hanson, A., Barnes, D. and Hill, R., Eds.) pp. 25-91, Agron, Monograph 29, Madison, USA.

Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **70**: 3321-3323.

Oleson, B. (1994). World wheat production, utilization and trade In: *Wheat Production, Properties and Quality* (Bushuk, W. and Rasper, V. F., Eds.) pp. 1-11, Springer, Chapman and Hall, London, UK.

Quiros, C.F. (1980). Identification of alfalfa plants by enzyme electrophoresis. *Crop science*, **20**: 262-264.

Simons, R. (1990). Relationships between seedling traits and mature plant yield in alfalfa. *Canadian Journal of Plant Science*, **69**: 206-213.

Singh, A.K., Mishra, A. and Shukla, A. (2009). Genetic assessment of traits and genetic relationship in blackgram (*Vigna mungo*) revealed by isoenzymes. *Biochemical Genetics*, **47**: 471-485.

Soltis, D.E. and Soltis, P.S. (1990). *Isozymes in plant biology*, Springer, Chapman and Hall, London, UK.

Tucak, M., Popovic, S., Cupic, T., Grljusic, S., Bolaric, S. and Kozumplik, V. (2008). Genetic diversity of alfalfa (*Medicago spp*.) estimated by molecular markers and morphological characters. *Periodicum Biologorum*, **110**: 243-249.

Valizadeh, M., Mohayeji, M., Yasinzadeh, N., Nasrullazadeh, S. and Moghadam, M. (2011). Genetic diversity of synthetic alfalfa generations and cultivars using tetrasomic inherited allozyme markers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, **13**: 425-430.

Van-Xuan, D. and Jin, I.D. (2011). Relationship between esterase isozymes and some agronomic traits in F2 populations derived from the crossing of Milyang 23 and Ashahi. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, **14**: 11-15.

Veronesi, F., Brummer, E.C. and Huyghe, C. (2010). Alfalfa In: *Handbook of plant breeding: Fodder Crops and Amenity Grasses* (Boller, B., Posselt, U.K. and Veronesi, F., Eds.) pp. 395-437, Springer, New York, USA.

Veronesi, F., Rosellini, D. and Albertini, E. (2003). The use of molecular markers in alfalfa breeding. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, **39**: 104-111.

Xie, C. and Mosjidis, J. (1995). Seedling-selection effects on morphological traits of mature plants in red clover. *Theoretical and Applied Genetics*, **91**: 1032-1036.

Yeh, F., Yang, R. and Boyle, T. (1999). POPGENE VERSION 1.31: Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, University of Alberta. *Edmonton Journal, AB, Canada*.

Zeidler, M. (2000). Electrophoretic analysis of plant isozymes. *Biologica*, **38**: 7-16.

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]

[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]

Investigation of Esterase and Peroxidase Isozymes in Improved and Iranian Landraces of Alfalfa and Their Relationships with Agronomic and Morphological Traits

Maryam Ahmadi[1], Mustafa Valizadeh[2,*], Mahmoud Tourchi[2], Mohammad Moghaddam Vahed[2] and Hossein Mohammadzadeh Jalaly[1]

1- Former M.Sc. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Agriculture Faculty, University of Tabriz, Tabriz
2- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Agriculture Faculty, University of Tabriz, Tabriz

(Received: December 26, 2013 – Accepted: March 15, 2014)

Abstract

For evaluation of genetic diversity among improved alfalfa varieties and Iranian landraces, 12 populations including five improved varieties (Kaysari, Kadi, Ranger, Mesmir, Seariver) and seven landraces (Gharayonje, Amozeynadin, Rahnani, Tazekand, Shazand, Hamedani, Yazdi) were evaluated using agronomic traits and enzyme markers. Thirty-five individuals of each variety were grown and analyzed in separate pots in a unbalanced completely randomized design (CRD). Analysis of variance for agronomic traits showed significant differences for most of the traits among improved and landrace varieties. For esterase and peroxidase enzymes based on presence or absence of enzyme bands (1, 0) eleven polymprphic isozyme bands were detected. For improved and landrace varieties Shanon index mean was 0.48 ± 0.246 and 0.519 ± 0.193, respectively, furthermore Nei genetic diversity index mean for improved and landraces was 0.327 ± 0.181 and 0.352 ± 0.148 respectively, suggesting no difference between improved and landrace varieties was found. Analysis of relation between isozyme markers and agronomic traits showed that there are significant differences between the presence of POX-4 and wet and dry yield in improved varieties.

Keywords: Alfalfa, Genetic diversity, Isozyme markers, Polymorphism.

* **Corresponding Author, E-mail: mvalizadeh@tabrizu.ac.ir**

[Downloaded from pgr.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.4.9]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.37]