

ایجاد کلکسیون هسته ای ژرم پلاسِم لویبای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) بر اساس صفات مورفولوژیک در بانک ژن گیاهی ملی ایران

شاهین واعظی

استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر
(تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱۰ - تاریخ تصویب: ۹۱/۸/۲۴)

چکیده

لویبای معمولی با نام علمی (*Phaseolus vulgaris* L.) یکی از مهمترین لگوم های خوراکی در دنیا می باشد. ایجاد یک کلکسیون هسته ای می تواند زمینه ساز دسترسی آسان تر به ذخایر ژنتیکی و در نتیجه ارتقا کاربرد این مواد در برنامه به نژادی گیاه لویبای شود. در این بررسی نحوه ایجاد یک کلکسیون هسته ای از کلکسیون اصلی لویبای بانک ژن گیاهی ملی ایران مشتمل بر ۱۴۲۵ نمونه تشریح شده است. در این روش بر مبنای منشا جغرافیایی و ارزیابی ۱۷ صفت کیفی مورفولوژیک با استفاده از روش وارد، نمونه ها در ۷ دسته گروه بندی شدند. آنگاه از هر خوشه به صورت تصادفی و با توجه به منشا جمع آوری تعدادی شماره نمونه برای تشکیل کلکسیون هسته انتخاب شدند. با استفاده از روش های مقایسه میانگین U مان - ویتنی؛ آماره همگنی واریانس لون و توزیع فراوانی ها با آماره مربع کای میزان تشابه کلکسیون مرکزی تشکیل شده با کلکسیون اصلی نشان داده شد. شاخص تنوع فنوتیپی شانون - ویور نیز بر تشابه تنوع صفات مختلف در دو کلکسیون دلالت داشت.

واژه های کلیدی: کلکسیون هسته ای، لویبای معمولی، صفات کیفی مورفولوژیک

مقدمه

ایده اولیه تشکیل کلکسیون مرکزی توسط فرانکل و براون در سال ۱۹۸۴ (Frankel & Brown, 1984) در مواجهه با محدودیت های مدیریت و ارزیابی حجم بزرگی از ذخایر ژنتیکی برای اهداف خاص اصلاحی مثلاً^۱ برای شناسایی منابع ژنتیکی حامل ژنهای مطلوب مقاومت به یک تنش زنده یا غیرزنده؛ ارائه شد. کلکسیون هسته ای، زیر مجموعه ای از مجموعه اصلی است که نزدیکترین تنوع را نسبت به کلکسیون اولیه یا اصلی نشان می دهد (Brown, 1989a). بنابراین می توان کلکسیون هسته ای تشکیل شده را مورد ارزیابی وسیع تر قرار داده و اطلاعات حاصل از آن را بصورت

کارآمدتری نسبت به کلکسیون اصلی مورد بهره برداری قرارداد (Brown, 1989b). استراتژی نمونه گیری برای تشکیل کلکسیون هسته ای عمدتاً^۲ بر گروه بندی نمونه ها در گروهها یا خوشه های هموزن (یکنواخت) اولیه و آنگاه به گزینش زیرنمونه هائی از این خوشه ها برای تشکیل یک کلکسیون هسته مرکزی استوار است. (Amalraj et al., 2006).

روش های گروه بندی می تواند از نوع مراتبی^۱ (Peeters & Martielli, 1989; Hintum et al., 2000) یا غیرمراتبی^۲ با استفاده از صفات کیفی؛ کمی و یا

1. Hierarchical
2. Non-hierarchical

Hintum et al., (Kannenberg et al., 1994) کلم (Hintum et al., 1997) ارز (Upadhyaya et al., 2006) پنبه (Xu et al., 2006) و همچنین حبوبات مهمی نظیر لوبیا چشم بلبلی (Mahalakshmi et al., 2007) عدس (Erskine & Hannan et al., 1994)، نخود (Muehlbauer, 1991)، خود (Rodriño, et al., 2001) ولوبیا (Upadhyaya, et al., 2003 ; Paredes et al., 2010) کلکسیون هسته ای تشکیل شده است.

کلکسیون ذخایر ژنتیکی لوبیای زراعی بانک ژن گیاهی ملی ایران پیش از این در طی سالهای ۱۳۸۱ تا ۱۳۸۶ برحسب تیپ زراعی در پروژه های جداگانه برای تعیین سطح تنوع خصوصیات مهم آگرومورفولوژیک مورد مطالعه قرار گرفته بود (Vaezi et al., 2007)، (Vaezi et al., 2006a) ، (Vaezi et al., 2006b) ، (Vaezi et al., 2006c) . در تحقیق حاضر تشکیل یک کلکسیون هسته ای از کلکسیون اصلی نمونه های متنوع لوبیا موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران ؛ با استفاده از خصوصیات کیفی مورد ارزیابی و مقایسه آن با کلکسیون اصلی ارائه شده است.

مواد و روش ها

راهبرد تشکیل کلکسیون هسته ای

مجموعه ذخایر ژنتیکی کلکسیون لوبیای مطالعه شده شامل سه تیپ زراعی لوبیا سفید ، لوبیا قرمز ولوبیا چیتی در حدود ۱۴۲۵ نمونه بود. ابتدا براساس ارزیابی صفات کیفی و مورفولوژیکی بر روی گیاه ؛ غلاف و دانه شامل ۱۷ صفت (جدول ۱) که در طی سالهای ۱۳۸۱ تا ۱۳۸۴ در مزرعه پژوهشی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام گرفته بود (Vaezi et al., 2007)، (Vaezi et al., 2006a) ، (Vaezi et al., 2006b) ، (Vaezi et al., 2006c).

گروه بندی تعداد نمونه ها با استفاده از روش WARD (Ward, 1963; Bisht et al., 1998) صورت پذیرفت. آنگاه براساس استراتژی انتخاب تصادفی نسبت ثابت تقریبی ۱۰٪ از افراد از هر زیرگروه جدا شدند. در این انتخاب تناسب فراوانی تیپ زراعی و منشأ جغرافیائی نمونه ها نیز لحاظ گردید (Furman, 2006; Li et al., 2005; Bhattacharjee et al., 2007) ، به

تلفیقی از آن دو باشد (Harch et al., 1996; Bisht et al., 1998). مهمترین روش برای استخراج نمونه نیز عبارت است از نمونه گیری تصادفی که متناسب است با اندازه سهم هر گروه یا خوشه که بایستی همان اندازه در نمونه نیز لحاظ گردد. نسبت مورد نظر را می توان با توجه به مقدار ثابت (مطلق) سهم (Spagnoletti & Qualset, 1993) و (Hamdi & El-Assily, 1995) ، مقدار نسبی یا مقدار لگاریتم آن تعیین نمود. راهبردهای متفاوتی برای جداسازی افراد از کلکسیون اصلی و تشکیل کلکسیون مرکزی ارائه شده اند ولی پیش از این امر گروه بندی یکنواخت افراد برحسب منشأ (تا ۹۵٪ کلکسیون های مرکزی براین مبنا تشکیل یافته) و همچنین اطلاعات اضافی مورفولوژیکی (تا ۷۷٪ کلکسیونها) و تقسیم بندیهای سیستماتیک درون گونه ای و بین گونه ای (۶۳٪) و اقلیمهای جغرافیائی (۳۴٪) و مارکرهای ژنتیکی (تا ۱۰٪) به کار برده شده است (Amalraj et al, 2006). علاوه بر اینها به کارگیری روش های چند متغیره آماری نظیر تجزیه خوشه ای (Spagnoletti & Raamsdonk, & Wijnker, 2000) و تجزیه به مولفه های اصلی (Mahajan et al, 1996; Upadhyaya, 2003) ویا گروه بندی با توجه به آنالیز شجره ای نیز از دیگر راه های تشکیل کلکسیون هسته ای می باشد (Hintum, & Haalman, 1994).

نسبت انتخابی افراد برای تشکیل کلکسیون هسته ای از ۰/۳٪ در تشکیل کلکسیون جو (Knu'pffer & Wei Hai, 2003) تا ۲۰٪ در بادمجان (Van Hintum, 2008) متغیر بوده است و بنابر این نوع گونه مورد مطالعه (Yonezawa et al., 1995) عامل ویژه تشکیل کلکسیون هسته ای (Miklas PN et al., 1999) و یا یک استراتژی از پیش تعریف شده که در آن معیارهای خاصی بطور متوالی در مسیرگزینش افراد کلکسیون مدنظر قرار می گیرند می تواند در انتخاب افراد موثر باشد (Diwan et al., 1995) ولی بیشترین تاکید بر تناسب نمونه ای کلکسیون هسته ای نسبت به کلکسیون اصلی است (Van Hintum et al., 2000).

تاکنون در تعدادی از گیاهان زراعی گندم (Mackay, 1984; Vaughan Zeuli & Qualset, 1993) یونجه

نحوی که هر نمونه با منشا جغرافیائی منحصر به فرد نیز جدا و در کلکسیون مرکزی قرار گرفت.

جدول ۱- نحوه ارزیابی و امتیازدهی صفات کیفی در کلکسیون لوبیا سفید مطابق دستورالعمل IPGRI در کلکسیون اصلی

گروههای فنوتیپی (امتیاز)	صفت
رشد محدود (۱)، رشد نامحدود با شاخه های ایستاده (۲)، رشد نامحدود با شاخه های افتاده (۳)	تیپ رشد
تمام گیاهان ایستاده (۳)، ترکیبی از گیاهان ایستاده و خوابیده (۵)، تمام گیاهان خوابیده (۷)	خوابیدگی بوته
چهارگوش (۱)، نیمه مدور (۲)، مدور (۳)	شکل برگ
سبز کم رنگ (۳)، سبز (۵)، سبز تیره (۷)	رنگ کلروفیل برگ
ریزش تمام برگها (۳)، ریزش نیمی از برگها (۵)، بدون ریزش برگها (۷)	پایانی برگ
سفید (۱)، سبز (۲)، بنفش کم رنگ (۳)، سفیدلبه بنفش (۴)، سفیدبا نوارهای قرمز (۵)، بنفش تیره لبه قرمز (۶)، بنفش تیره بلکه های مایل به ارغوانی (۷)، قرمز جگری (۸)، ارغوانی (۹)، سایر رنگها (۱۰)	رنگ استاندارد
سفید (۱)، سبز (۲)، بنفش (۳)، سفید با نوارهای جگری (۴)، بنفش کم رنگ با نوارهای بنفش پررنگ (۵)، ارغوانی (۸)	رنگ بال
بنفش تیره (۱)، قرمز جگری (۲)، سبز بانوار ارغوانی (۵)، سبز معمولی (۷)، سبز مایل به نقره ای (۹) راست (۳)، با کمی انحنای (۵)، با انحنای زیاد (۷)، با انحنای مکرر (۹)	رنگ غلاف انحنای غلاف
انحنای بالا (۳)، راست (۵)، افتاده (۷)	انحنای نوک غلاف
خیلی پهن (۱) گلابی شکل (۲) گرد (۳) شکل عددهشت لاتین (۴)	شکل مقطع عرضی غلاف
بدون نخ (۰)، دارای نخ کم (۱)، دارای نخ متوسط (۳)، دارای نخ زیاد (۵)	نخ غلاف
چسبیده به بذرها (۱)، نیمه چسبیده به بذرها (۲)، آزاد (۳)	فیبر دیواره غلاف
پایین بوته (۱)، مرکز بوته (۲)، بالای بوته (۳)	محل غلاف در بوته
سیاه یا مشکی (۱)، قهوه‌های روشن یا تیره (۲)، خرمائی مایل به قرمز (۳)، خاکستری از مایل به قهوه ای تا مایل به سبز (۴)، زرد تا زرد مایل به سبز (۵)، گرم روشن تا خودی (۶)، سفید خالص (۷)، مایل به سفید (۸)، سفید جزئی ارغوانی (۹)، سبز کلروفیلی (۱۰)، سبز تا زیتونی (۱۱)، قرمز (۱۲)، صورتی (۱۳)، ارغوانی (۱۴)، سایر رنگها (۱۵)	رنگ روشن دانه (رنگ زمینه)
کدر یا مات (۳)، متوسط (۵)، درخشان (۷)	درخشندگی دانه
مدور (۱)، بیضی (۲)، مکعبی (۳)، قله ای شکل (۴)، مخروطی شکل (۵)	شکل دانه

اعتبارسنجی کلکسیون هسته ای تشکیل شده

میزان تنوع دو کلکسیون اصلی و هسته ای محاسبه گردید. همچنین حدود تغییرات در دو کلکسیون اصلی و هسته ای برآورد و مورد مقایسه قرار گرفت اصلی و هسته ای برآورد و مورد مقایسه قرار گرفت. روند جهت و مقادیر نسبی همبستگی دوه دو صفات که به روش اسپیرمن انجام گرفت نیز به عنوان شاخص دیگری میزان تطابق دو کلکسیون مورد استفاده قرار گرفت.

مقایسه و تطابق کلکسیون هسته ای تشکیل شده با کلکسیون اصلی با روش های آماری مختلفی انجام گرفت. فرض صفر تطابق توزیع حدود متوسط کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته ای با استفاده از روش ناپارامتریک U مان - ویتنی (Mann, & Whitney, 1947)

انجام شد. میزان یکنواختی واریانس صفات با

آزمون لون (Levene, 1960) و یکنواختی توزیع نسبت

های فنوتیپی با آماره کای - اسکوار انجام شد (Spagnoletti & Qualset, 1993 Rezaei, 1995;)

استفاده از شاخص تنوع فنوتیپی شانون (H') (Shannon

& Weaver, 1949 و Li & Zhang, 1996) و معادله

ذی ربط آن:

$$H' = - \sum_{i=1}^n P_i \ln p_i$$

نتایج و بحث

کلکسیون اصلی

با استفاده از مجموعه داده های مربوط به خصوصیات مهم زراعی پیوسته و توصیفی که در بررسی های پیشین بدست آمده بود یک آنالیز خوشه ای (جدول ۱) به روش "وارد" بر روی نمونه ها انجام گرفت و در نتیجه نمونه ها در ۷ گروه خوشه بندی شدند (جدول ۲).

جدول ۲ - تعداد و درصد هر تیپ زراعی حاصل از تجزیه خوشه ای ژرم پلاسما لوبیا در بانک ژن گیاهی ملی ایران

شماره خوشه	تیپ زراعی			تعداد کل خوشه	نسبت /۱۰٪ سفید	نسبت /۱۰٪ قرمز	نسبت /۱۰٪ چیتی
	سفید	قرمز	چیتی				
۱		۱۲۹	۱۳	۱۴۲		۲	۱۳
۲		۴۸۰	۲۲	۵۰۲		۳	۴۸
۳	۲۷	۲۳	۳۱۶	۳۶۶	۳	۳	۳۲
۴		۱۳	۲۹	۴۲		۲	۳
۵		۲		۲		۱	
۶	۴۱۴	۲	۸	۴۲۴	۴۲	۱	۱
۷		۳		۳		۱	
جمع	۴۴۱	۶۵۲	۳۸۸	۱۴۸۱	۴۵	۶۹	۴۱

تشکیل کلکسیون هسته ای

اعضای کلکسیون هسته ای در سه مرحله مشخص گردیدند. ابتدا برحسب انتخاب ۱۰٪ از نمونه های موجود در هر خوشه برای تشکیل کلکسیون هسته ای که یکی از روش های معمول تشکیل کلکسیون هسته ای می باشد و اولین بار توسط براون (Brown, 1989a) پیشنهاد گردید اقدام شد.

بر اساس نظر آنها به این ترتیب احتمال قراگیری ۸۰٪ آلل های موجود در کلکسیون اصلی، در کلکسیون تشکیل یافته وجود دارد. این روش توسط دیگران هم بکار گرفته شده است. میکلاس و همکاران (Miklas et al., 1999) نیز نسبت ۱۰٪ برای تشکیل کلکسیون هسته ای را از یک کلکسیون لوبیا کافی دانست. رودیو و همکاران (Rodriño et al., 2003) با نسبت ۱۳٪ از کلکسیون اصلی لوبیا کلکسیون هسته ای را تدارک دید. نسبت ۱۱/۲٪ در تشکیل کلکسیون هسته ای بادام زمینی (Holbrook et al., 1993) و همچنین نسبت ۱۶/۶٪ در گندم دوروم (Spagnoletti & Qualset, 1993) گزارش شده است. با توجه به راهبرد در نظرگیری تناسب انتخاب یک بار برحسب تیپ زراعی؛

یک بار برحسب اقلیم آب وهوائی محل جمع آوری و بار دیگر برحسب منشا جغرافیائی انتخاب ۱۰٪ افراد انجام گرفت. که نتایج استخراج در جداول ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است. در دو حالت اول تقریباً "تعداد نمونه یکسانی (حدود ۱۵۰) از مواد ژنتیکی انتخاب گردید. ولی براساس منشا جغرافیائی محل جمع آوری در حدود ۱۸۱ نمونه لوبیا انتخاب شدند.

این بخش از مطالعه پیش از این توسط اپایادایا و همکاران (Upadhyaya, et al., 2006) برای تشکیل کلکسیون هسته ای بر روی ارزن، فورمن (Furman, 2006) بر روی عدس و توسط لی (Li et al., 2005) بر روی ژرم پلاسما ذرت بکار گرفته شد. در ارزیابی تشکیل کلکسیون هسته ای لوبیا رودینو و همکاران (Rodriño et al., 2003) نسبت اندازه جمعیت کلکسیون هسته ای به کلکسیون اصلی ۱۳٪ و ردی بررسی پارادس (Paredes et al., 2010) نسبت ۲۲٪ برآورد گردید.

با اضافه شدن نمونه هایی که تنها نماینده منشا جغرافیائی شهرستان محل جمع آوری شان و تقریب به تعداد بالاتر با هدف کاهش احتمال از دست دادن سطح تنوع آلی کلکسیون اصلی تعداد نمونه ها

در کلکسیون تشکیل یافته به ۲۰۴ عدد افزایش یافت (جدول ۵).

جدول ۳ - تعداد و در صد نمونه های ژرم پلاسم لوبیا حاصل از گروه بندی به روش تجزیه خوشه ای برحسب منشا اقلیمی نمونه ها

شماره خوشه	ممتل	میدترانه ای	گرم	میدترانه ای	گرم و خشک	خنیف	نیمه بیابانی	بیابانی	استپی سرد	سرد	نیمه بیابانی	میدترانه ای	نیمه	منشا نامشخص	تعداد کل در خوشه	نمونه انتخابی	نسبت %	نوع اقلیم	
																		ممتل	میدترانه ای
۱		۱۳	۱۶			۱۸	۲	۵۳			۴	۳۶		۱۴۲	۱۴				
۲		۳۰	۶۳			۷۵	۴	۱۰۸		۱	۶	۲۱۵		۵۰۲	۵۰				
۳	۵	۳۰	۶۱			۲۱	۳	۷۵		۶	۸	۱۵۷		۳۶۶	۳۷				
۴		۳	۴			۶		۵				۲۴		۴۲	۴				
۵								۲						۲	۱				
۶	۳	۱۱	۲۸			۲		۸۸		۵		۲۸۷		۴۲۴	۴۲				
۷			۲					۱						۳	۱				
جمع کل	۸	۸۷	۱۷۴			۱۲۲	۹	۳۳۲		۱۲	۱۸	۷۱۹		۱۴۸۱	۱۴۹				

جدول ۴- تعداد و در صد نمونه های ژرم پلاسم لوبیا حاصل از گروه بندی به روش تجزیه خوشه ای برحسب منشا جغرافیای محل جمع آوری

شماره خوشه	شهر	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	جمع کل از هر شهر	نمونه انتخابی	نسبت %
	نامشخص		۲۸۷		۲۴	۱۵۶	۲۱۵	۳۵	۷۱۷	۷۱	
	ابهر		۲		۲	۶	۱۴	۱۰	۳۴	۴	
	اهر				۲	۴			۶	۱	
	الیگودرز		۷			۲	۴	۶	۱۹	۲	
	اراک		۱۱		۲	۶	۷	۴	۳۰	۳	
	آشتیان		۳			۷	۷	۱	۱۸	۲	
	بابل		۲			۵			۷	۱	
	بافق					۲			۲	۱	
	انزلی					۲			۲	۱	
	بیرجند					۱	۶		۷	۱	
	بجنورد		۲			۵	۱۱	۵	۲۴	۴	
	بروجن		۲			۱	۲		۵	۱	
	بوجرد		۵			۲	۴	۱	۱۲	۱	
	بویراحمد					۴	۳		۷	۱	
	دماوند					۳	۲		۵	۱	
	درگز					۱	۳		۴	۱	
	دشتستان						۲		۲	۱	
	دلیجان					۲			۲	۱	
	اسفراین						۳		۳	۱	
	فریدن					۲			۲	۱	
	فارسان		۱			۱	۲		۴	۱	
	فردوس						۳		۳	۱	
	قائنات				۲	۲	۵	۲	۱۱	۱	
	قزوین					۳	۳		۶	۱	
	قوچان					۲	۲		۲	۱	

ادامه جدول ۴- تعداد و درصد نمونه های ژرم پلاسما لوبیا حاصل از گروه بندی به روش تجزیه خوشه ای برحسب منشأ جغرافیای محل جمع آوری

۱	۳		۳					قروه	
۱	۴		۴					گنبد	
۱	۴			۴				گنبدکاوس	
۱	۱۲	۲	۵	۲		۳		همدان	
۳	۳۱	۶	۲۲	۳				کاشمر	
۲	۱۴	۳	۴	۴		۳		همدان	
۱	۱			۱				خدابنده	
۴	۳۸		۵	۲۵		۶	۲	خمین	
۳	۲۳	۳	۵	۴	۲	۹		خرم آباد	
۱	۱		۱					خوی	
۱	۱			۱				کهکیلویه	
۱	۱					۱		کردکوی	
۱	۱			۱				لنگرود	
۱	۸			۶		۲		لردگان	
۱	۴					۴		محلات	
۲	۲۱	۲	۸	۳		۸		ملایر	
۱	۷		۳	۲		۲		مراغه	
۱	۲			۱		۱		مرند	
۱	۲			۲				مریوان	
۳	۳۰	۶	۲۱	۳				مشهد	
۱	۱۱	۵	۴	۲				مهریز	
۲	۱۸	۶	۵	۱		۶		نهایند	
۱	۱۰	۳	۷					نیشابور	
۱	۲			۲				ارومیه	
۱	۲					۲		قم	
۱	۱			۱				رامسر	
۱	۲			۲				رودسر	
۳	۳۳	۳	۲۶	۲	۲			سبزوار	
۱	۸	۱	۴	۳				سلماس	
۵	۵	۲	۱	۲				سنندج	
۱	۶			۳	۱	۲		سراب	
۱۰	۹۹	۱۱	۲۶	۲۹	۱	۳۱	۱	سرپند	
۱	۱۰	۲	۲	۶				ساری	
۱	۶		۳	۱		۲		ساوه	
۱	۱۲		۱	۶		۵		شهرکرد	
۱	۳	۲	۱					شیروان	
۱	۲				۲			تبریز	
۵	۴۹	۹	۲۱	۱۲		۷		تفرش	
۲	۲۰	۲	۷	۱۱				تفت	
۲	۱۶	۲	۴			۲	۸	تویسرکان	
۱	۱۳	۴	۶	۳				تریت حیدریه	
۱	۵		۴	۱				یزد	
۱	۲	۲						زاهدان	
۱	۲	۲						زنجان	
۱	۲				۲			زرنند	
۱۸۱	۱۴۸۰	۱۴۲	۵۰۲	۳۶۶	۴۲	۲	۴۲۴	۳	جمع کل

جدول ۵- مقایسه تعداد نمونه در کلکسیون اصلی وهسته ای ژرم پلاسم لوبیا برحسب تیپ زراعی

تیپ زراعی	تعداد	کلکسیون اصلی	تعداد	کلکسیون هسته ای	تعداد
چیتی	۳۸۸	۰/۲۶۲	۶۲	۰/۳۰۴	(%)
قرمز	۶۵۲	۰/۴۴	۸۹	۰/۴۳۶	
سفید	۴۴۱	۰/۲۹۸	۵۳	۰/۲۶	
جمع کل	۱۴۸۱	۱	۲۰۴	۱	

اعتبار کلکسیون تشکیل شده

آزمون جدول توافقی وجود تطابق بین نسبت کلاس های مشاهده شده در کلکسیون اصلی و کلکسیون منتخب مورد ارزیابی قرار گرفت و با توجه به عدم معنی داری آزمون کای اسکور (Rezaei, 1995)، (جدول ۶) مشخص شد که از لحاظ تنوع کلاس های فنوتیپی به جز صفات رنگ غلاف و رنگ استاندارد و رنگ بال در گل که به ترتیب ۶ کلاس از ۸ کلاس فنوتیپی؛ ۵ کلاس به جای ۷ کلاس و ۷ کلاس به جای ۱۰ کلاس فنوتیپی رادر کلکسیون مرکزی نسبت به کلکسیون اصلی نشان دادند؛

بقیه صفات تنوع یکسانی راز از لحاظ تعداد کلاس فنوتیپی در کلکسیون اصلی و مرکزی نشان دادند. عبارت دیگر نسبت تیپ های زراعی در کلکسیون اصلی در کلکسیون مرکزی حفظ شد. نتیجه ای مشابه نتیجه ای که پیش از این وانگ ژن در تشکیل کلکسیون هسته ای زیتون معطریاشیرین (Wangjun et al., 2009) و همچنین توسط اپایادایا و همکاران (Upadhyaya et al., 2006) در رزن و سورگوم (Upadhyaya et al., 2009) گزارش نموده اند.

جدول ۶ - مقایسه توزیع فراوانی صفات کیفی در کلکسیون اصلی و مرکزی لوبیای بانک ژن گیاهی ملی ایران

صفت	تعداد کلاس	χ^2	سطح احتمال
تیپ رشد	۴	۳/۰۱۲	۰/۳۹
رنگ استاندارد	۵	۰/۹۶۵	۰/۹۲۴
رنگ بال	۶	۱/۷۲۹	۰/۸۸۵
رنگ کلروفیل برگ	۳	۱۳/۶۶۴	۰/۰۰۸
شکل برگ	۳	۱/۵۳۸	۰/۴۶۴
پایانی برگ	۶	۱۲	۱۰۰۰
خوابیدگی بوته	۳	۸/۰۱۸	۰/۰۴۶
محل غلاف در بوته	۳	۱/۷۳۶	۰/۴۲۸
رنگ غلاف	۷	۲۲/۱۷۳	۰/۰۰۱
انحنای غلاف	۴	۱/۰۵۲	۰/۷۸۹
انحنا نوک غلاف	۳	۲/۴۷۹	۰/۲۹
شکل مقطع عرضی غلاف	۵	۲/۲۳۸	۰/۶۹۲
نیخ غلاف	۳	۶/۴۷۷	۰/۰۳۹
فیبردیواره غلاف	۴	۳/۷۸۴	۰/۲۸۶
رنگ روشن بذر(رنگ زمینه)	۱۱	۲/۷۶۲	۰/۲۵۱
درخشندگی بذر	۳	۱۵/۶۲۸	۰/۰۰۸
شکل بذر	۱۱	۱۰/۰۷۵	۰/۴۳۴

مقایسه میانگین رتبه ای صفات کیفی به روش مقایسه ناپارامتریک یومان ویتنی نیز دلالت بر عدم

وجود تفاوت معنی دار در دو کلکسیون اصلی و مرکزی برای هر یک از صفات مورد مطالعه داشت (جدول ۷) .

جدول ۷ - مقایسه میانگین رتبه ای صفات کیفی ارزیابی شده کلکسیون اصلی و مرکزی لوبیا

صفات	میانگین اصلی	میانگین مرکزی	آماره U مان-ویتنی	سطح احتمال	وجود تفاوت
تیپ رشد	۲/۱۳±۰/۰۲۱	۲/۱۰±۰/۰۰۵	۱۴۱۸۹۱	۰/۵۸۰۴۴۴	NS
رنگ استاندارد	۱/۶۳±۰/۰۳۶	۱/۷۵±۰/۰۱۲	۱۴۳۵۹۵/۵	۰/۸۲۷۵۰۰۶	NS
رنگ بال	۱/۵۸±۰/۰۰۳	۱/۹۶±۰/۰۱۱	۱۴۴۳۷۲/۵	۰/۹۷۳۲۲۲	NS
رنگ کلروفیل برگ	۴/۳۱±۰/۰۰۳	۴/۳۰±۰/۰۱۲	۱۴۳۸۴۷/۵	۰/۸۶۱۶۸	NS
شکل برگ	۱/۵۸±۰/۰۰۲	۱/۶۱±۰/۰۰۵	۱۴۰۱۵۴/۵	۰/۳۷۹۸۶	NS
پایانی برگ	۵/۲۵±۰/۰۰۳	۵/۲۴±۰/۰۰۶	۱۴۳۸۱۲/۵	۰/۸۱۷۷۶۷	NS
خوابیدگی بوته	۵/۴۴±۰/۰۰۶	۵/۶۱±۰/۰۲۵	۱۴۴۸۶۲/۵	۰/۹۵۸۹۳۳	NS
محل غلاف در بوته	۲/۵۹±۰/۰۰۳	۲/۶۲±۰/۰۰۷	۱۴۱۸۶۰	۰/۶۷۸۵۴۲	NS
رنگ غلاف	۱/۶۸±۰/۰۰۵	۱/۶۵±۰/۰۱۵	۱۲۶۲۲۸/۵	۰/۰۰۴۰۷۶	NS
انحنای غلاف	۴/۵۶±۰/۰۰۴	۴/۵۸±۰/۰۰۱	۱۴۲۴۸۸/۵	۰/۸۴۶۵۶۲	NS
انحنای نوک غلاف	۵/۹۷±۰/۰۰۴	۶/۰۰±۰/۰۰۱	۱۴۱۴۹۲	۰/۶۸۱۷	NS
شکل مقطع عرضی غلاف	۱/۹۰±۰/۰۰۱	۱/۸۸±۰/۰۰۳	۱۴۰۹۱۵/۵	۰/۴۵۸۴۹۷	NS
نخ غلاف	۲/۹۴±۰/۰۰۳	۳/۰۸±۰/۰۰۹	۱۳۷۷۳۵	۰/۲۰۷۲۷	NS
فیبردیواره غلاف	۵/۴۱±۰/۰۰۳	۵/۵۲±۰/۰۰۷	۱۳۷۹۸۸	۰/۲۸۲۷۷۳	NS
رنگ روشن بذر(رنگ زمینه)	۹/۲۶±۰/۰۰۸	۹/۴۲±۰/۰۲۱	۱۳۰۶۳۸	۰/۳۷۹۸۵۵	NS
درخشندگی بذر	۷/۲۴±۰/۰۰۲	۷/۲۴±۰/۰۰۴	۱۳۵۷۷۹/۵	۰/۹۹۴۴۱۲	NS
شکل بذر	۳/۸۷±۰/۰۰۵	۳/۸۴±۰/۰۰۹	۱۳۳۹۰۳/۵	۰/۷۷۰۷۹۴	NS

NS: معنی دار نیست.

رنگ استاندارد و رنگ بال نیز در سطح ۵٪ معنی دار شدند (جدول ۸).

همچنین براساس آزمون یکنواختی واریانس لون تنها صفت رنگ غلاف غیر یکنواختی بسیار معنی داری را در دو کلکسیون اصلی و فرعی نشان دادند و صفات

جدول ۸ - مقایسه یکنواختی واریانس صفات کیفی در کلکسیون اصلی و مرکزی لوبیا با استفاده از آماره لون

صفات	آماره لون	P value (سطح معنی داری)
تیپ رشد	۲/۳۸۸۵۲۳	۰/۱۲۲
رنگ استاندارد	۴/۴۶۰۹۹۷	۰/۰۳۴
رنگ بال	۴/۷۹۰۷۰۴	۰/۰۲۸
رنگ کلروفیل برگ	۰/۳۸۷۹۵	۰/۵۳۳
شکل برگ	۰/۰۱۱۲۶۲	۰/۹۱۵
پایانی برگ	۲/۷۹۴۱۱۷	۰/۰۹۴
خوابیدگی بوته	۰/۹۶۹۶۳	۰/۳۲۴
محل غلاف در بوته	۲/۲۱۵۱۹۵	۰/۱۳۶
رنگ غلاف	۳۵/۶۲۶۲۸	۰/۰۰۰
انحنای غلاف	۰/۶۱۵۰۲۶	۰/۴۳۳
انحنای نوک غلاف	۰/۰۰۰۴۲۲	۰/۹۸۳
شکل مقطع عرضی غلاف	۲/۳۹۰۶۷۳	۰/۱۲۲
نخ غلاف	۰/۰۰۰۸۹۹	۰/۹۷۶
فیبردیواره غلاف	۱/۰۰۱۵۱۹	۰/۳۱۷
رنگ روشن بذر(رنگ زمینه)	۰/۳۸۴۸۳۵	۰/۵۳۵
درخشندگی بذر	۰/۰۵۸۸۹۲	۰/۸۰۸
شکل بذر	۰/۳۸۳۴۵۱	۰/۵۳۵

کلکسیون هسته ای و کلکسیون هسته ای بعنوان یک روش کلی توسط پارا کوئيجانو (Parra-Quijano et al.,)

استفاده از دوروش ناپارامتریک مقاسه میانگین یومان ویتنی و مقایسه یکنواختی واریانس لون صفات کیفی در

کلکسیون هسته ای از کلکسیون اصلی نیشکر) *Saccharum spontaneum* (توسط آمال راج وهمکاران (Amalraj et al., 2006) و وانگ ژن در تشکیل کلکسیون هسته ای زیتون معطریاشیرین (Wangjun et al., 2009) مشاهده شد و بیشترین مقدار تنوع فنوتیپی برای صفت پایائی برگ در کلکسیون اصلی و برای صفت درخشندگی بذر در کلکسیون مرکزی مشاهده گردید. مقدار متوسط این شاخص در هر دو کلکسیون مقدار بسیار نزدیکی از مقادیر حداکثر این شاخص را دادند.

(2009) مورد تاکید قرار گرفته است. تطابق مشاهده شده میانگین صفات در کلکسیون هسته ای اصلی لوبیا در بررسی حاضر با نتایج تشکیل کلکسیون هسته ای زیتون معطریاشیرین (Wangjun et al., 2009) و همچنین ارزن مروارید (Upadhyaya et al., 2011) و سورگوم (Upadhyaya et al., 2009) نتایج مشابهی را از لحاظ روش مورد استفاده و کارایی آن بدست داده است. مقایسه شاخص تنوع فنوتیپی شانون - ویوراستاندارد شده (نسبی) در دو کلکسیون اصلی و مرکزی بیانگر مقادیریکسان برای این شاخص در کلیه صفات کیفی مورد مطالعه بود (جدول ۹). نتیجه ای که درتشکیل

جدول ۹ - مقایسه شاخص شانون نسبی برآورد شده برای صفات کیفی در کلکسیون اصلی و هسته ای لوبیا

کلکسیون اصلی	کلکسیون هسته ای	صفت
۰/۹۹۵	۰/۹۸۶	تیپ رشد
۰/۹۸۷	۰/۹۴۳	رنگ استاندارد
۰/۹۹۳	۰/۹۴۳	رنگ بال
۰/۹۹۱	۰/۹۹۲	رنگ کلروفیل برگ
۰/۹۹۵	۰/۹۸۱	شکل برگ
۰/۹۹۸	۰/۹۹۷	پایائی برگ
۰/۹۹	۰/۹۸۴	خوابیدگی بوته
۰/۹۹۴	۰/۹۸۴	محل غلاف در بوته
۰/۹۹۱	۰/۹۸۶	رنگ غلاف
۰/۹۹۶	۰/۹۸۹	انحنای غلاف
۰/۹۹۸	۰/۹۹۴	انحنا نوک غلاف
۰/۹۹۸	۰/۹۹۵	شکل مقطع عرضی غلاف
۰/۹۹۶	۰/۹۹۴	نخ غلاف
۰/۹۹۷	۰/۹۹۷	فیبردیواره غلاف
۰/۹۸۲	۰/۹۸۹	رنگ روشن بذر(رنگ زمینه)
۰/۹۹۴	۰/۹۹۹	درخشندگی بذر
۰/۹۸۷	۰/۹۸۹	شکل بذر
۰/۹۹۹	۰/۹۹۹	میانگین

که کم و بیش توسط وانگ ژن در تشکیل کلکسیون هسته ای زیتون معطریاشیرین (Wangjun et al., 2009) ویا بر روی گیاه سورگوم برای تشکیل یک کلکسیون فشرده تر از کلکسیون هسته تحت عنوان ریرکلکسیون هسته^۱ در سورگوم (Upadhyaya et al, 2009) و مطالعه

در مجموع ، تطابق حدود تغییرات ۱۴ صفت از ۱۷ صفت مورد مطالعه به شکل دیگری بیان کننده میزان تطابق تنوع مشاهده شده در کلکسیون هسته ای تشکیل شده نسبت به کلکسیون اصلی لوبیا می باشد(جدول ۱۰). تنها صفات رنگ غلاف و شکل مقطع عرضی غلاف نشان دهنده حدود تغییرات نامتشابه برای مقایسه دو کلکسیون هسته ای اصلی می باشند. روندی

تشکیل کلکسیون هسته ای ارزن مروارید (Upadhyaya et al, 2011) مورد توجه استفاده قرار گرفت.

جدول ۱۰ - مقایسه حدود تغییرات در کلکسیون اصلی و مرکزی لوبیا برای انواع صفات کیفی ارزیابی شده

درصد	کلکسیون هسته ای		کلکسیون اصلی		صفت
	بیشینه	کمینه	بیشینه	کمینه	
با قیمانده * ۱۰۰	۳	۱	۳	۱	تیپ رشد
۱۰۰	۹	۱	۹	۱	رنگ استاندارد
۱۰۰	۹	۱	۹	۱	رنگ بال
۱۰۰	۷	۲	۷	۲	رنگ کلروفیل برگ
۱۰۰	۳	۱	۳	۱	شکل برگ
۱۰۰	۷	۳	۷	۳	پایایی برگ
۱۰۰	۵۵	۳	۵۵	۳	خوابیدگی بوته
۱۰۰	۴	۱	۴	۱	محل غلاف در بوته
۷۷	۸	۱	۱۰	۱	رنگ غلاف
۱۰۰	۹	۱	۹	۱	انحنای غلاف
۸۳	۷	۲	۷	۱	انحنا نوک غلاف
۶۶	۳	۱	۴	۱	شکل مقطع عرضی غلاف
۱۰۰	۷	۰	۷	۰	نخ غلاف
۱۰۰	۷	۳	۷	۳	فیبردیواره غلاف
۱۰۰	۱۵	۱	۱۵	۱	رنگ روشن بذر (رنگ زمینه)
۱۰۰	۱۰	۳	۱۰	۳	درخشندگی بذر
۱۰۰	۷	۱	۷	۱	شکل بذر

* حدود تغییرات در کلکسیون هسته ای نسبت به کلکسیون اصلی

مقایسه سطح همبستگی صفات

صفات مرتبط دانست. نظری که وانگ ژن و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی تشکیل کلکسیون هسته ای زیتون معطریا شیرین و نیز والیورا و همکاران (۲۰۱۰) نیز در تشکیل کلکسیون هسته ای در گیاه سویا آماره مناسبی ارائه نموده اند با آزمون معنی داری داده شده است. انتظار می رود ایجاد کلکسیون هسته ای حاضر امکان مطالعه سریع تری در شروع چرخه به نژادی برای اهداف خاص به منظور بالابردن شانس شناسایی نمونه های مستعد و متناسب فراهم می نماید. از جمله می توان مطالعه وغربال مواد ژنتیکی برای مواجهه با تنش های زنده و غیرزنده را می توان با بررسی کلکسیون حاضر شروع نمود.

والته تغییر و تکمیل کلکسیون هسته ای تشکیل یافته در بررسی های بیشتر بخصوص با ورود مواد ژنتیکی جدید و استفاده از راهبردهای کاراتر در موجب دینامیک بودن این کلکسیون در طی زمان خواهد بود،

مطابقت همبستگی بین صفات می تواند راه دیگری برای بررسی میزان تناسب و انتخاب صحیح اعضا مجموعه کلکسیون هسته ای نسبت به کلکسیون اصلی باشد. لذا ضروری است نسبت میزان همبستگی بین صفات در کلکسیون اصلی را در کلکسیون هسته ای نیز مشاهده نمود (Ortiz et al., 1998). صحت این موضوع از طریق بررسی همبستگی های محاسبه شده به روش اسپیرمن که در جدول ۱۱ نشان داده شده است قابل ارزیابی می باشد. از بین ۱۳۶ جفت همبستگی محاسبه شده بین صفات کیفی در کلکسیون اصلی و کلکسیون هسته ای تعداد حدود ۸۰ جفت از همبستگی ها یا حدود ۵۸٪ مطابقت دیده شد تطابق متوسط (۰/۵۸) مشاهده شده بین روابط بین صفات در کلکسیون هسته ای در مقایسه با کلکسیون اصلی را می توان به عدم تطابق فراوانی ژن های موثر برای ایجاد همبستگی بین

روشی که مورد تاکید دیگران (Mackay, 1995) نیز قرار گرفته است.

جدول ۱۱ - تجزیه همبستگی اسپرمن بین جفت صفات کیفی ارزیابی شده در کلکسیون اصلی (عناصر بالایی قطر) لوبیای بانک زن گیاهی ملی ایران

متغیر	رنگ استاندارد	رنگ نال	کلروفیل	شکل بزرگ	پایانی بزرگ	خواهیدگی پونه	محل غلاف در پونه	رنگ غلاف	انضای غلاف	انضای نوب غلاف	شکل مقطع عرضی غلاف	نخ غلاف	فیبر پوداره غلاف	رنگ روشن غلاف (رنگ زمینی)	درخشندگی بنر	شکل بنر
تپب رشد	۱															
رنگ استاندارد	-۰.۱۱۵	۱														
رنگ نال	-۰.۰۶۱(*)	-۰.۹۲۳(**)	۱													
کلروفیل	-۰.۰۸۳(**)	-۰.۹۲۲(**)	-۰.۱۱۴	۱												
شکل بزرگ	-۰.۰۸۶(**)	-۰.۰۱۲	-۰.۰۰۵	-۰.۰۳۶	۱											
پایانی بزرگ	-۰.۰۴۹	-۰.۳۳۳(**)	-۰.۰۳۳	-۰.۰۳۶	-۰.۰۰۱	۱										
خواهیدگی پونه	-۰.۱۲۳(**)	-۰.۰۷۸(**)	-۰.۰۰۶	-۰.۰۰۱	-۰.۰۰۴	-۰.۰۸۷(**)	۱									
محل غلاف در پونه	-۰.۱۲۴(**)	-۰.۰۵۶(*)	-۰.۰۰۹	-۰.۰۰۴	-۰.۰۰۴	-۰.۰۵۶(*)	-۰.۰۲۹	۱								
رنگ غلاف	-۰.۰۲۷	-۰.۲۷۲(**)	-۰.۰۲۶	-۰.۰۹۷(**)	-۰.۰۳۳	-۰.۲۷۱(**)	-۰.۰۴۴	-۰.۰۲۷	۱							
انضای غلاف	-۰.۰۵۱(**)	-۰.۰۵۱(*)	-۰.۰۲۳	-۰.۰۵۱(**)	-۰.۰۲۹	-۰.۰۲۳	-۰.۰۱۰	-۰.۰۲۳	-۰.۰۲۳	۱						
انضای نوب غلاف	-۰.۰۰۹	-۰.۰۳۰(**)	-۰.۰۳۵	-۰.۰۲۱	-۰.۰۲۱	-۰.۰۲۱	-۰.۰۲۱	-۰.۰۲۱	-۰.۰۲۱	-۰.۰۲۱	۱					
شکل مقطع عرضی غلاف	-۰.۰۳۲	-۰.۰۹۱(**)	-۰.۰۹۴	-۰.۰۸۶(**)	-۰.۰۳۳	-۰.۰۳۳	-۰.۰۳۳	-۰.۰۳۳	-۰.۰۳۳	-۰.۰۳۳	-۰.۰۳۳	۱				
نخ غلاف	-۰.۰۲۰(**)	-۰.۱۱۹(**)	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	-۰.۰۶۲	۱			
فیبر پوداره غلاف	-۰.۰۹۱(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	-۰.۲۸۵(**)	۱		
رنگ روشن غلاف (رنگ زمینی)	-۰.۰۰۹	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	-۰.۰۴۸(**)	۱	
درخشندگی بنر	-۰.۱۱۱(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	-۰.۳۲۸(**)	۱
شکل بنر	-۰.۲۲۲(**)	-۰.۱۱۴(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	-۰.۰۹۰(**)	۱

* همبستگی معنی دار در سطح ۰.۰۵/

** همبستگی معنی دار در سطح ۰.۰۱/

سپاسگزاری

از کلیه محققان و کارشناسان مجری و تکنسین هائی که در ثبت داده های پروژ های اولیه و در اجرای پروژه حاضر مشارکت داشته اند ، تشکر و قدردانی می شود.

این تحقیق بخشی از پروژه تحقیقاتی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به شماره ۸۶۰۱۲-۲۵۰۰۰۰-۱۲۰۰۰۰-۱۰۱۱-۲ بوده است. بدین وسیله

REFERENCES

1. Amalraj, V. A. Balakrishnan, R. Jebadhas, A.W. & Balasundaram, N. (2006). Constituting a core collection of *Saccharum spontaneum* L. and comparison of three stratified random sampling procedures. *Genet. Resour. Crop Evol.* 53, 1563-1572
2. Bhattacharjee, R. Khairwal, I. S. Bramel, P. J. & Reddy, K. N. (2007). Establishment of a pearl millet *Pennisetum glaucum* core collection based on geographical distribution and quantitative traits. *Euphytica*, 155, 35-45.
3. Bisht, I. S. Mahajan, R. K. Loknathan, T. R. & Agrawal, R. C. (1998). Diversity in Indian sesame collection and stratification of germplasm accessions in different diversity groups. *Genet. Resour. Crop Evol.* 45, 325-335.
4. Bisht, I. S. Mahajan, R. K. & Pate, D. P. I. (1998). The use of characterization data to establish the Indian mung bean core collection and assessment of genetic diversity. *Genet. Resour. Crop Evol.* 45, 127-133
5. Brown, A. H. D. (1989a). Core collections: A practical approach to genetic resources management. *Genome* 31, 818-824.
6. Brown, A. H. D. (1989b). The case for core collections. In: Brown, A. H. D. Frankel, O.H. Marshal, R. D. Williams, J. T. (eds). *The use of plant genetic resources*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 136-155
7. Diwan, N. McIntosh, M. S. & Bauchan, G. R. (1995). Methods of developing a core collection of annual medicago species. *Theor Appl Genet* 90, pp. 755-761.
8. Erskine, W. & Muehlbauer, F. J. (1991). Allozyme, and morphological variability, out crossing rate and core collection formation in lentil germplasm. *Theor Appl Genet*, 83, 119-125.
9. Frankel, O. H. and Brown, A. H. D. (1984). Plant genetic resources today: A critical appraisal. p. 249-257. In Holden, J.H.W., and J.T. Williams (eds.) *Crop genetic resources: Conservation & evaluation*. George Allen & Urwin Ltd., London, UK.
10. Furman, B. J. (2006). Methodology to establish a composite collection: Case study in lentil. *Plant Genetic Resources: Conservation and Utilization*, 4, 2-12.
11. Hamdi, A. & El-Assily, K. A. (1995). Screening lentil germplasm for adaptation to irrigation under field conditions. *Annals of Agricultural Science*, 33(3), 961-971
12. Hannan, R. M. Kaiser, W. J. & Muehlbauer, F. J. (1994). Development and Utilization of the USDA Chickpea Germplasm Core Collection. *Agronomy Abstracts* 1994. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, p. 217.
13. Harch, B. D. Basford, K. E. & Delacy, I. H. (1996). Mixed data types and the use of pattern analysis on the Australian groundnut germplasm data. *Genetic Resources and Crop Evaluation*. 43, 363-376.
14. Hintum, Th. J. L. Van. Brown, A. H. D. Spillance C, & Hodgkin T. (2000). *Core collections of plant genetic resources. IPGRI Technical Bulletin* No.3. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 76, 447-450
15. Hintum, I. W. Van. Hintum, T. J. L. & Astley, D. (1997). The creation and composition of the *Brassica oleracea* core collection. *Plant Genetic Resources Newsletter*. 111, 29-32.
16. Hintum, Th. J. L. van. & Haalman, D. (1994). Pedigree analysis for composing a core collection of modern cultivars, with examples from barley (*Hordeum vulgare* s. lat.). *Theor Appl Genet*, 88, 70-74.
17. Holbrook, C. C. Anderson, W. F. & Pittman R. N. (1993). Selection of a core collection for the U. S. germplasm collection of peanut. *Crop Sci.* 33, 859-861.
18. Kannenberg, N. Bauchan, G. R. & McIntosh, M. S. (1994). A core collection for the United States annual Medicago germplasm collection. *Crop Science* 34, 279-285.
19. Knu'pffer, H. & Hintum, T. (2003). Summarised diversity—the Barley Core Collection. In: von Bothmer R, van Hintum T, Knu'pffer H, Sato K (eds) *Diversity in barley (Hordeum vulgare)*. *Developments in plant genetics and breeding*, Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands, pp259-267
20. Levene, H. (1960). Robust tests for equality of variances. p. 278-292. In I. Olkin (ed.) *Contribution to probability and statistics: Essays in honor of Harold Hoteling*. Stanford Univ. Press, Stanford, CA.
21. Li, Y. Shi, Y. Cao, Y. & Wang, T. (2005). Establishment of a core collection for maize germplasm preserved in the Chinese National Genebank using geographic distribution and characterization data. *Genet. Resour. Crop Evo* 51, 845-852

22. Li, Y. S. Wu, Y. S. Cao, & Zhang, X. (1996). A phenotypic diversity evaluation. Euphyanalysis of foxtail millet [*Setaria italica*] of Chinese origin. *Genet. Resour. Crop Evol.* 43, 377–384.
23. Mackay, O. H. (1984). Genetic perspectives of germplasm conservation. In: Arber W, Llimensee WK, Peacock WJ & Starlinger P(eds) *Genetic Manipulation: Impact on Man and Society*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 161–170.
24. Mackay, M. C. (1995). One core collection or many? In: T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum & A.A.V. Morales (Eds.), *Core Collections of Plant Genetic Resources*: 199–210. John Wiley & Sons.
25. Mahajan, R. K. Bisht, I. S. Agrawal, R. C. & Rana, R. S. (1996). Studies on South Asian okara collection : A methodology for establishing a representative core set using characterization data. *Genet. Resour. Crop Evol.* 43, 244–255.
26. Mahalakshmi, V. Q. Ng, M. Lawson. & Ortiz, R. (2007). Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] core collection defined by geographical, agronomical and botanical descriptors. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 5(3), 113–119.
27. Mann, H. B. & Whitney, D. R. (1947). "On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other". *Annals of Mathematical Statistics*, 18, 50-60.
28. Miklas, P.N. Delorme, R. Hannan, R. & Dickson, M. H. (1999). Using a subsample of the core collection to identify new sources of resistance to white mold in common bean. *Crop Sci* 39,569–573.
29. Oliveira, M. F. R. L. Nelson, I. O. Geraldi, C. D. Cruz, J. Francisco. & Toledo, F. (2010). Establishing a soybean germplasm core collection. *Field Crops Research* 119, 277–289
30. Ortiz, R. Ruia-Tapia, E. N. & Mijica-Sanchez, A. (1998). Sampling strategy for a core collection of Peruvian Quinoa germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 96, 475–483
31. Paredes, M. Becerra, V. Tay, J. Blair, M. W. & Bascur, G. Selection of a Representative Core Collection from the Chilean Common Bean Germplasm. *Chilean J Agri Res* 2010, 70(1), 3–15.
32. Peeters, J. P. & Martielli, J. A. (1989). Hierarchical cluster analysis as a tool to manage variation in germplasm collections. *Theoretical and Applied Genetics*. 78, 2-48
33. Raamsdonk, L. W. D. van & Wijnker, J. (2000). The development of a new approach for establishing a core collection using multivariate analyses with tulip as case. *Genet. Resour. Crop Evol.* 47, 403–416
34. Rezaei, A. (1995). Concepts of probability and statistics (Ed.) . *Nashr Mashhad*, IRAN (In Farsi)
35. Rodiño, A. P. M. Santalla, A. M. de Ron, & Singh, S. P. (2003). A core collection of common bean from the Iberian Peninsula. *Euphytica*. 131, 165-175
36. Shannon, CE. & Weaver, W. (1949). *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana, USA
37. Spagnoletti Zeuli, P. L. & Qualset, CO. (1993). Evaluation of five strategies for obtaining a core subset from a large genetic resource collection of durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 87, 295-304.
38. Upadhyaya, H.D. Bramel, P. J & Singh, S. (2001). Development of a chickpea core subset using geographic distribution and quantitative traits. *Crop Science* 41, 206–210
39. Upadhyaya, H. D. (2003). Phenotypic diversity in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) core collection assessed by morphological and agronomical evaluations. *Genet. Resour. Crop. Evo.* 50, 539–550
40. Upadhyaya, D. H. C. L. L. Gowda, R. P.S. Pundir, V. Gopal Reddy & Sube Singh. (2006). Development of core subset of finger millet germplasm using geographical origin and data on 14 quantitative traits. *Genet. Resour. Crop Evo* 53 ,679–685
41. Upadhyaya, H. D. R. P. S. Pundir, S. L. Dwivedi, C. L. L. Gowda, V. G. Reddy & Singh, S. (2009). Developing a minicore collection of sorghum for diversified utilization of germplasm. *Crop Sci.* 49, 1769–1780
42. Vaughan Zeuli, PL & Qualset, CO. (1993). Evaluation of five strategies for obtaining a core subset from a large genetic resource collection of durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 87, 295–304.
43. Vaezi, Sh. Dorri, H. & seraj, H. (2007). *Study of agromorphological diversity among multicolor common bean collection of National Plant Gene Bank of Iran*. Final report .Seed and Plant Improvement Institute , Report No, 86/90
44. Vaezi, Sh. Dorri, H. Lak, R. & seraj, H. (2006a). *Study of morphological diversity among white common bean breeding lines and landraces in the National Plant Gene Bank of Iran*. Final report .Seed and Plant Improvement Institute , Report No, 85/1185
45. Vaezi, Sh. Dorri, H. Beizaei, A. & seraj, H. (2006b). *Regeneration and preliminary evaluation of diversity in chitee common bean collection of the national plant gene bank of IRAN*. Final report .Seed and Plant Improvement Institute , Report No, 85/421
46. Vaezi, Sh. Beizaei, A. & seraj, H. (2006c). *Regeneration and preliminary evaluation of diversity in red common bean collection of the national plant gene bank of IRAN*. Final report .Seed and Plant Improvement Institute , Report No, 85/199

47. Wangjun, Y. Lei, j. i. Han, Y. Yan, X. Shang, F. (2009). Development of core collection using morphological descriptors in Sweet osmanthus (*Osmanthus fragrans* Lour.) germplasm. *Life Science Journal*, Vol 6 (2), 17 – 22
48. Ward, J. H. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J Am Stat Assoc* 58, 236–244
49. Weihai, M. Jinxin2, Y. & Sihachakr, D. (2008). Development of core subset for the collection of Chinese cultivated eggplants using morphological-based passport data. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 6(1), 33–40
50. Xu, H. Y. Mei, q. Hu. J. Zhu, J. & Gong, P. (2006). Sampling a core collection of Island cotton (*Gossypium barbadense* L.) based on the genotypic values of fiber traits. *Genet. Resour. Crop Evo* 53, 515–521
51. Yonezawa, K. Nomura, T. & Morishima, H. (1995). Sampling strategies for use in stratified germplasm collections. In: Hodgkin T, Brown AHD, Hintum van TJJ, Morales EAV (eds) *Core collections of plant genetic resources*. JohnWiley & Sons, Chichester, UK, pp 35–53.