Name of Canditate: Zeinab Mohamed Abd El-Naby Degree: Ph.D.

Title of Thesis: Inbreeding, Selection, Fertility and Flower Structure in the Egyptian

clover (*Trifolium alexandrinum*)

**Supervisors:** Dr. Mazhar Mohamed Fawzy Abdalla Dr. Adel Abd El-Moniem Hoballah

Dr.: Ahmed Monged Soliman

Dr.: Ahmed Mohamed Mahrous Rammah

Department: Agronomy Approval: 18 / 4 / 2009

## **ABSTRACT**

These studies were conducted during four growing seasons (2003/4 to 2006/7) at the Faculty of Agriculture, Cairo University (FACU) and the Agriculture Research Center (ARC).

The two multi-cut Egyptian clover (berseem) Miskawi varieties S 79 and Ahaly were used. Selection was practiced in both varieties in different inbreeding generations for self-fertility (SF) expressed as percentage of seed set per 100 florets. Fertility of spaced-grown plants was recorded on plants for bagged heads; either manually tripped gently by fingers (MT), or bagged heads left for spontaneous seed set (ST) and also for open–pollinated (OP) heads.

Several selected populations and families raised were evaluated with the parental varieties (I<sub>0</sub>-original), and three to five check varieties (Sakha-4, Helaly, Gemmeiza-1 Serw-1 and Assiut pop.) and an Experimental population. Selection for SF resulted in clear SF improvement of MT in different MT generations (I<sub>0</sub>, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, I<sub>3</sub>, I<sub>4</sub>, I<sub>5</sub>, I<sub>6</sub> and I<sub>7</sub>) also improvement occurred in OP and to less extent in ST.

From results of fertility and selection, it was assumed that the species is self-compatible but cross-fertilized. It needs tripping to result in self-set seed. The enigma and controversial data published on *T. alexandrinum* were explained assuming the species (or its progenitor) was self-incompatible that has been forced to inbreeding. Remnant characteristics that favour cross pollination may be still functioning in different populations. These may be associated with flower structure, self-incompatibility genes, unilateral incompatibility genes, female incompatibility genes.

The MT selections showed good vegetative growth and yield. Selections out yielded parents and check varieties mainly because of more tillers plant<sup>-1</sup> and to less extent plant height. The selection for high self-fertility through inbreeding and MT was accompanied by good vegetative growth. This means that berseem breeders will be able to select for high seed setting without loosing good vegetative growth. Reasons to explain enigma of absence of inbreeding depression in MT were forwarded. An approach to develop new improved composite populations in berseem was suggested.

Improvement occurred in seed set and flowering (more inflorescences plant<sup>-1</sup>, more floret head<sup>-1</sup>, increase of flower organs) by selection in MT. Best seed set occurred in I<sub>7</sub> than earlier generations in MT, OP and ST. It was discussed that increase in flower numbers and flower organs, more pollen grains and better composition of florets extraction will introduce attractiveness to flowers. This will encourage insect visitation, more tripping and improve female capacity for seed set whether selfed or outcrossed. SDS-PAGE indicated 17 bands. Two bands were absent in electrophoresis of I<sub>7</sub> high MT-ST plants. Polymorphism was apparent in peroxidase isozyme banding. RAPD profiles showed absence of fragment (about 350 bp) that could be used to finger print selfed plants. Crosses between high MT and crosses between intermediate MT were close to parents in fertility. However, crosses between MT and ST differed in performance.

**Key words:** Berseem clover, Trifolinm alexandrinum, Fertility, Tripping, Compatibility, Selection, Sterility, Incompatibility.

اسم الطالبة: زينب محمد عبد النبي الدكتوراة

عنوان الرسالة: التربية الذاتية و الانتخاب و الخصوبة وتركيب الزهرة في البرسيم المصري

المشرفون: دكتور: مظهر محمد فوزي عبد الله

دكتور: عادل عبد المنعم حب الله

دكتور: أحمد منجد سليمان دكتور: أحمد محمد محروس رماح

قسم: المحاصيل تاريخ منح الدرجة: 18 / 4 / 2009

## المستخلص العربي

أجريت هذه الدراسة خلال اربعة مواسم زراعية (2004/2003 حتى 2007/2006) في كلية الزراعة جامعة القاهرة ومركز البحوث الزراعية وفيها تم استخدام صنفين مركبين من البرسيم المصري المسقاوي عديد الحشات (S79 وAhaly) وتم الإنتخاب في كلا الصنفين وفي أجيال التربية الذاتية لعدد من الأجيال بناء علي عقد البذور (SF) لكل مائة زهرة وكانت الدراسة لعقد البذور في نباتات منزرعة علي مسافات بعد تغطية النورات الصغيرة بالأكياس ثم إطلاقها برقة باليد ثلاث مرات (MT) وفي نفس الوقت تم تغطية نورات أخري وتركت لإنتاج بذور ذاتية (ST) كما تم دراسة العقد في نورات مفتوحة التلقيح (OP). وتم مقارنة المنتخبات مع الأب الأصلي  $(I_0)$  و خمسة أصناف أخري (سخا-4، هلالي، جميزة -1، سرو-1، عشيرة أسيوط) وأحيانا عشيرة تجريبية.

اظهرت التربية الذاتية والإنتخاب للخصوبة تحسن في خصوبة النباتات (MT) في كل الأجيال (I<sub>7</sub>,I<sub>6</sub>,I<sub>5</sub>,I<sub>4</sub>,I<sub>3</sub>,I<sub>2</sub>,I<sub>1</sub>,I<sub>0</sub>) وكذلك تحسنت الخصوبة في النبانات الناتجة عن التلقيح المفتوح (OP) وظهر أقل تحسن في (ST). تقوقت العائلات على آبائها في نظم OP و MT. وظهر من نتائج الخصوبة والإنتخاب أن الأصول المستخدمة هذه الدراسات تعني أن T. alexandrinum نوع متوافق ذاتيا إلا أنه يتبع النباتات خلطية الإخصاب (حيث يحتاج إلي الإطلاق Tripping لعقد البذور ذاتيا). وتم تفسير لغز النتائج المتضاربة المنشورة عن هذا المحصول بأن النوع (أو آبائه) كان متنافرا ذاتيا و أجبر علي التربية الذاتية وما زال في بعض عشائره بقايا الصفات التي تشجع التلقيح الخلطي مثل صفات تركيب الزهرة، عوامل وراثية للتنافر الذاتي، عوامل وراثية للتنافر في الإتجاه الواحد و عوامل وراثية لعدم قبول الإخصاب بأي حبوب لقاح. بالنسبة للنمو الخضرى والصفات المحصولية فقد أظهرت النتائج أن الانتخاب لتحسين الخصوبة يمكن أن يكون مصحوبا بتحسن في النمو الخضرى. وظهر تفوق المنتخبات على الآباء وأصناف المقارنة في كل الصفات الخضرية. وهذا يعني أن مربو البرسيم يمكنهم الانتخاب لعقد البذور الجيد دون فقد للنمو الخضرى المتفوق. وتم تفسير التحسين الناتج عن التربية الذاتية، كان تفوق النمو الخضري يرجع إلي التحسن في عدد الفروع ثم طول النباتات وتم التوصية إلى نظام يمكن تطبيقه للحصول على عشائر تركيبية محسنة.

وظهر تحسن عقد البذور و تحسن التزهير (عدد أكبر من النورات للنبات ، وعدد أكبر من الأزهار للنورة، وزيادة حجم أعضاء الزهرة) بالانتخاب في الأجيال المتتابعة بالتربية الذاتية. وكان أحسن عقد لبذور النورة في الجيل الم المبيل الأولى وظهر ذلك في MT, OP, ST. وتم مناقشة أن زيادة عدد وحجم الأزهار و زيادة أعداد حبوب اللقاح و زيادة المستخلصات من الأزهار (الرحيق) سوف يعطى جاذبية أكبر للأزهار لكي تقوم الحشرات بزيارتها. وسوف ينتهي ذلك بزيادة الإطلاق وبالتالى "قدرة الأمهات" لعقد البذور سواء كان العقد ناتجا عن الإخصاب الذاتي أو الإخصاب الخلطي.

أظهر إختبار SDS-PAGE ظهور سبعة عشر حزمة (شرائط) من البروتينات بدون أية فروق بين العشائر مع غياب حزمتين في النباتات ( $I_7$ ) عالية الخصوبة مع الفرك وبدون رغم وجودها في أخواتها ( $I_{6-0}$ ) مفتوحة التلقيح.

في إختبار التفريد الكهربي ظهرت حزمتين (شريطين) من البروتينات في عشائر OP وظهر تعدد المظاهر في إختبار حزم البيروكسيديز يمكن أن يكون بعضها مرتبطا بالخصوبة العالية كما أن إختبار RAPD أظهر إختفاء حزمة يمكن توظيفها كبصمة وراثية لتعريف النباتات المرباة ذاتيا.

أظهرت الهجن بين الآباء عالية الخصوبة MT وكذلك المتوسطة الخصوبة في الهجن أنها قريبة من آبائها إلا أن الهجن بين الآباء MT و ST تباينت في أدائها.

الكلمات الدالة: البرسيم، البرسيم المصري، الخصوبة، الإطلاق، التوافق، الإنتخاب، العقم، عدم التوافق.

## **CONTENTS**

	Page
INTRODUCTION	1
REVIEW OF LITERATURE.	3
1. Fertility and compatibility of Egyptian clover	3
2. Effect of inbreeding	11
MATERIALS AND METHODS	15
1. Fertility and vegetative traits	15
2. Flower structure, nectar composition and molecular characterization	18
RESULTS AND DISCUSSION	23
1. Inbreeding and selection for fertility	23
<b>a</b> . Experiment of 2003-2004 (ARC)	23
<b>b.</b> Experiments of 2004-2005 and 2005-2006 (ARC)	25
<b>c.</b> Experiments of 2005-2006 of selected families (FACU)	29
d. Experiments of 2006-2007 of 8 selected families (ARC)	31
e. Inbreeding and selection effects on tillering,	0.2
flowering and actual seed set (2006/2007)	33
<b>f.</b> Percentage of self-sterile plants	37
g. Enegma of fertility and compatibility	37
2. Vegetative growth and yield characters	44
a. Narmar and Hatour populations (2003/2004)	
(FACU)	45
<b>b.</b> Selections from S79 variety (2003/2004) (ARC)	48
c. Selection from Ahaly variety (2003/2004) (ARC)-	52
<b>d.</b> Evaluation of selections from S79 variety in	
2004/2005 (ARC)	56
e. Evaluation of selections from Ahaly variety in	
2004/2005 (ARC)	60
<b>f.</b> Evaluations of a set of selections from both variet-	
ies for individual plant traits (2004/2005) (ARC)	64
g. Plant traits of selections from S79 and Ahaly	<b>60</b>
variety in (ARC) (2005/2006)	68

Ahaly varieties in dense planting (20 (FACU)		
1. Selections from S79 variety		
2. Selections from Ahaly variety		
i. Forage yield of selected families in 20		
(ARC)		
1. Performance of selected fam variety (ARC)		
2. Performance of selected families variety (ARC)		
j. Vegetative growth and self-fertility ar	nd an	
approach to develop composite popu		
. Flowering, flower structure, fertiliza	,	
set and floret extract composition		
<b>a.</b> Number of flowers inflorescence <sup>-1</sup>		
<b>1.</b> Number of flowers inflorescence		
selections from S79 variety		
<b>2.</b> Number of flowers inflorescence	in sele	ctions
from Ahaly variety		
<b>b.</b> Measurements of flower organs in S7		
descendent selections		
c. Pollen grains. fertilization and seed se		
<b>d.</b> Bee visits and floret extract composit		
e. Flower traits affecting fertility		
. Molecular characterization		
a. Banding generated by SDS-PAGE		
<b>b.</b> Peroxidase isozyme banding		
c. RAPD profile		
. Hybrids between different fertility cl	lasses	
UMMARY		
REFERENCES		
RABIC SUMMARY		