



تجزیه نمودار دو وجهی و ارزیابی دورگ برتری در تلاقي های نیمه دی آلل نسل دوم خودباروری یونجه

وبدا قطبی^۱، فرهاد عزیزی^۲، محمد جواد زمانی^۳ و افشین روزبهانی^۳

۱- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(نویسنده مسؤول: v.ghothbi@areeo.ac.ir)

۲- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۳- محقق، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اراک، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

تشخیص گروههای هترووتیک بین جمعیت‌های در حال اصلاح، اطلاعات بنیادی برای کنترل آگاهانه هتروزیس فراهم می‌کند. هیبریدهای آزاد در یونجه می‌توانند از طریق انتخاب والدین و تلاقي لاین‌های جزئی بدست آمده از دو تا سه نسل خودباروری آنها به منظور دستیابی به هتروزیس تولید شوند. به منظور مطالعه ترکیب‌پذیری و هتروزیس برای صفات عملکرد کل ماده خشک علوفه، ارتفاع و سرعت رشد مجدد، اینبردهای جزئی انتخاب شده از نسل دوم خودباروری هشت اکوتیپ یونجه در قالب یک طرح تلاقي نیمه دی آلل مورد ارزیابی قرار گرفتند. بذور ۲۸ دورگ نسل F₁ به همراه والدین در دو مکان کرج و اراک کشت و به مدت دو سال (۱۳۹۳-۱۳۹۴) ارزیابی شدند. از روش گرافیکی GGE biplot برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل استفاده گردید. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، میانگین مرباعات ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی و برهمن کنش آنها با محیط در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. روش گرافیکی GGE biplot نشان داد که والد نیک‌شهری دارای بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و والد کوزره و رهنانی دارای بیشترین مقدار ترکیب‌پذیری عمومی منفی برای تمامی صفات بودند. ترکیب‌پذیری خصوصی ناشی از والد خاص، نیک‌شهری با قهاآوند و نیک‌شهری با سیلوانا برای تمامی صفات بیشترین مقدار را داشت. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که در بین والدین مورد بروزی هتروزیس کافی برای تولید و معرفی ارقام دورگ وجود دارد، بنابراین امکان استفاده از خودباروری و تلاقي بین اینبردهای جزئی منتخب (S₁) برای به دست آوردن هتروزیس بیشتر، از طریق تلاقي بهترین سینگل کراس‌ها و تولید هیبریدهای دوبل با تولید هیبریدهای آزاد وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: بای‌پلات، ترکیب‌پذیری عمومی، ترکیب‌پذیری خصوصی، خودباروری، دی آلل، یونجه

شبه-هیبرید^۱ یونجه با تلاقي ژرمپلاسم‌های ژنتیکی متفاوت از طریق تشخیص گروههای هترووتیک پیشنهاد شده است (۵،۲۶). انتخاب والدین برای بدست آوردن حداکثر هتروزیس در تلاقي‌های یونجه از اهمیت زیادی برخوردار است (۱۵،۳۰). الگوی واضح هترووتیک از تلاقي دی آلل نه کلون الیت ساتیوا و ۵ کلون فالکاتا^۲ توسط رایدای و بروم (۲۶) مشاهده شد. همچنین میلیچ و همکاران (۲۰) در آزمایشی با ارزیابی هیبریدهای بین چندین منبع ژرمپلاسم در یک تلاقي دی آلل کامل به این نتیجه رسیدند که هر دو اثرات ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی برای صفات عملکرد ماده خشک، ارتفاع، تعداد ساقه و سرعت رشد مجدد معنی‌دار است. همچنین توک و همکاران (۳۷) نشان دادند که تولید نتاج برتر از نظر عملکرد علوفه از طریق تلاقي جمعیت‌های از یونجه با عملکرد بالا از مناطق جغرافیایی مختلف امکان‌پذیر است. از طرف دیگر ذکر شده است که خودباروری یونجه به همراه گریش، موثرترین روش برای متتمرکز شدن روی ساختار ژنتیکی شامل ژن‌ها و بلوك‌های ژنی پیوسته از نظر نمود در یونجه است و بدین طریق، بهبود ارزش اصلاحی والدین می‌تواند امکان‌پذیر شود (۳۲). خودباروری مؤثرترین روش برای اصلاح مواد متحمل به پس‌روی خویش‌آمیزی است (۲۴). پیشنهاد شده است که می‌توان از اثرات هتروزیس با ایجاد هیبریدهای آزاد از طریق تلاقي لاین‌های بدبست آمده از دو تا سه نسل خودباروری استفاده کرد (۶،۳۰). خودباروری

مقدمه

یونجه (*Medicago sativa* L.) که به عنوان ملکه گیاهان علوفه‌ای شناخته می‌شود، از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای جهان است. این گیاه در سرتاسر جهان در شرایط آب و هوایی مختلف به دلیل ارزش غذایی، میزان پروتئین بالا در واحد سطح، تثبیت نیتروژن و حفظ ساختار مناسب خاک کشت می‌شود (۱۲،۱۸). ایران که خود یکی از مراکز پیدایش یونجه است (۱۸)، دارای اکوتیپ‌های متفاوت از نظر مشخصات زراعی و فیزیولوژیکی در مناطق مختلف آب و هوایی ایران است. اهداف اصلی در برنامه‌های بهترادی یونجه افزایش عملکرد، پایداری و کیفیت علوفه است (۳۹)، ولیکن بهبود عملکرد یونجه به دلیل موانعی چون توارث تتراسومی، دگرگرده افسانی وابسته به حشرات، گل‌های دو جنسه و خصوصیات گیاهی، پیشرفته کندی داشته است (۵،۳۲). موقفيت در توسعه ارقام یونجه بستگی به روش بهترادی مورد استفاده دارد (۱۵). با کشف هتروزیس و استفاده از آن در برنامه‌های بهترادی، افزایش عملکرد سرعت بیشتری یافته است. یکی از موانع استفاده از هتروزیس در یونجه اتوترابلوئید، ساختار ژنتیکی پیچیده است (۳۶،۳۸). نتایج بسیاری از تحقیقات نشان داده است که امکان استفاده از اثرات ژنتیکی افزایشی و غیر افزایشی در برگیرنده اثر متقابل ژن‌های مکمل مرتبط با توارث پلی‌سومی در یونجه وجود دارد (۱،۳،۲۰،۲۶،۳۸،۴۰). استفاده از هتروزیس در

ترکیب‌پذیری عمومی و پاسخ‌های هتروتیک استفاده می‌شود (۷،۳۶). روش GGE biplot برای داده‌های آزمایشات چند محیطی توسعه یافت که ژنوتیپ‌ها به عنوان ورودی (اتری) و محیط‌ها به عنوان تست‌ها هستند. روش GGE biplot همچنین برای دی‌آل مرسوم ارجحیت دارد زیرا اثرات GCA و SCA جمعیت و برتری تلاقی‌ها و همین‌طور الگوی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها را به صورت توان می‌دهد (۲).

از آنچائیکه ایران یکی از مرکز پیدایش یونجه است و دارای اکوتیپ‌های بسیار متنوع با سازگاری وسیع است، تحقیقات بسیاری نیز در ارزیابی تنوع ژنتیکی برای شرایط نرمال و یا حتی تنش انجام شده است و دامنه تغییرات زیادی را از نظر تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری گزارش شده است (۲۲،۲۱،۱۶). مبیری فر (۲۳) با استفاده از تنوع موجود در درون و بین اکوتیپ‌های مورد بررسی، با گرینش ژنوتیپ‌های متحمل در تحت شرایط تنش شوری، برای تولید واریته سیستیک در یونجه اقدام نمود.

بنابراین با وجود تنوع وسیع ژنتیکی که در ارقام و اکوتیپ‌های یونجه وجود دارد، همچنین مزایای خودباروری و بازیابی هتروزیگوتوسیتی از طریق تلاقی بین کلون‌های برتر ایتردهای جزئی که اشاره شد، هدف از این مطالعه تجزیه و تحلیل دی‌آل با استفاده از مدل GGE biplot برای جمع‌آوری اطلاعات درباره روابط بین والدین، ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی و تشخیص ترکیبات هتروتیک برای عملکرد ماده خشک علوفه، ارتفاع، تعداد ساقه در هر گیاه، سرعت رشد مجدد از طریق تلاقی هشت والد گزینش شده از نسل دوم خودباروری از اکوتیپ‌ها و ارقام مختلف یونجه است، تا امکان دستیابی به بهترین تلاقی‌ها برای تولید واریته‌های هیرید آزاد از طریق خودباروری در یونجه بررسی شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این بررسی هشت اینبرد نسبی انتخاب شده از دو نسل خودباروری اکوتیپ‌های یونجه ایرانی شامل بی‌(کرمان)، ققهاده، کوزره و مهاجران (همدانی)، نیک شهری (سیستان و بلوچستان)، رهانی (اصفهان)، سبلوانا (قره یونجه) و یک رقم سکوئل (استرالیا) به صورت طرح نیمه دی‌آل (یک طرفه) در شرایط گلخانه بدون اخته کردن با یکدیگر تلاقی داده شدند. لازم به ذکر است که خودباروری به همراه گزینش بر اساس عملکرد ماده خشک و ویگور برای اکوتیپ‌ها و ارقام در شرایط مزرعه به مدت دو سال انجام گرفت. والدین به همراه ۲۸ نتاج F_1 در گلخانه‌ای قابل احیا در گلخانه در اوخر تابستان ۱۳۹۲ کشت شدند و گیاهچه‌های رشد یافته به مزرعه آزمایشی در موسسه تحقیقات اصلاح و تهییه نهال و بذر- کرج و اراک در اوایل پائیز ۱۳۹۲ منتقل گردیدند. کرت‌های آزمایشی شامل چهار ردیف به طول دو متر و فاصله ردیف $4/5$ متر بود و فاصله بین گیاهان روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. مزرعه آزمایشی بعد از انتقال گیاهچه‌ها برای دو هفته هر سه روز

در یونجه، یکنواخت کردن (هموژن کردن) مواد گیاهی را برای صفات زراعی امکان‌پذیر می‌کند، بطوریکه اشاره شده است که خودباروری به همراه گزینش موثرترین لینکات‌های شامل ژن‌های مطلوب و لینکات‌های است، بطوریکه بهبود ارزش اصلاحی والدین امکان‌پذیر شود (۳۰). در حقیقت مفهوم لینکات به عنوان پایه‌ای برای هتروزیس برای غلبه بر برخی از تنافقات از مدل‌های آلل متعدد در یونجه ارائه شده است (۸). واژه، برهمنکش ژن‌های مکمل برای تعریف عمل ژن برای عملکرد در لینکات‌های دمازی ابداع شد، با این تفسیر که بهترین شرایط آلل برای عملکرد وقتی هست که آلل‌های غالب مطلوب در همان لینکات جمع شوند و در حالت ریپالزن (ترانس) همسنگی داشته باشند (۴). بنابراین، لینکات‌ها، به عنوان واحدهای کاربردی، پراکنده و انتخابی می‌توانند هدف گزینش در یونجه باشند (۲۸). بنابراین آمیزش خویشاوندی و انتخاب برای عملکرد می‌تواند ابزار قوی برای بهبود و اصلاح عملکرد یونجه باشد. برنامه اصلاحی اتخاذ شده برای اصلاح مستقیم ویگور در یونجه در موسسه Lodi طرح شده است که شامل یک مرحله کاهش هتروزیگوتوسیتی از طریق خودباروری با گرینش برای ویگور در بین و داخل نتاج خودبارور شده در شرایط تراکم زراعی است و یک مرحله بازیابی هتروزیگوتوسیتی با تلاقی بین کلون‌های برتر اینبردهای جزئی است (۳۰). همچنین اشاره شده است که در تمام نسل‌های خویش آمیزی والدی (S_5 ، S_6 و S_7)، ترکیب‌پذیری عمومی همیشه بسیار معنی دار است در حالیکه ترکیب‌پذیری خصوصی فقط در سطح S_2 خودباروری معنی دار می‌شود. بطور کلی، هر دو ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی با خویش آمیزی و تلاقی بهترین سینگل کراس‌های بدست آمده از والدین اینبرد نسبی افزایش می‌یابد (۲۸). بنابراین، با خودباروری، اثرات غیرافزایشی باید به همراه اثرات افزایشی برای بیان حداقل ویگور در نظر گرفته شود. به نظر می‌رسد واریته‌های سیستیک بر اساس چهار والد گیاهی گزینش شده بتوانند یک روش موثر برای بهبود عملکرد یونجه باشند (۴۹). در مطالعه‌ای، اینبردهای نسبی نسل دوم خودباروری برای عملکرد ماده خشک و سایر صفات انتخاب شدند و سپس برای بدست آوردن هیریدهای ساده^۱ تلاقی داده شدند (۳۳). این هیریدهای تا نسل Syn₃ همراه با انتخاب تکثیر شدند برای اینکه والدین دبل کراس یا هیریدهای آزاد را با چهار والد تشکیل دهند.

دانش ساختار ژنتیکی و نحوه توارث صفات مختلف به بهزادگران کمک می‌کند تا روش اصلاحی مناسبی را انتخاب کنند (۷). روش‌های مختلفی برای برآورده شاخه‌های ژنتیکی استفاده می‌شود، که تجزیه دی‌آل با استفاده از روش گرینینگ یا هیمن از مهم‌ترین روش‌ها می‌باشند (۹،۱۰). یان GGE biplot و هانت (۴۲) یک روش ارزیابی سریعی که اثرباره نامیده می‌شود را برای ارزیابی داده‌های دی‌آل معرفی کردند. این تکنیک توانایی ترجمه و تفسیر تنوع فنوتیپی والدین را بر اساس نمودار گرافیکی با استفاده از PC₁ و PC₂ افزایش می‌دهد. GGE biplot به‌طور وسیعی برای تعیین

$$\text{COS}(a_{ij}) = r_{ij}$$

بطوريکه، a_{ij} زاويه بین وکتور دو والد i و j ضریب همبستگی بین دو والد است. دو والد بطوري مثبتی به هم 90° همبسته هستند اگر زاويه بین وکتور دو والد آنها کمتر از 90° باشد و بطوري منفی دو والد به هم همبسته هستند اگر زاويه بیش از 90° باشد. دو والد مستقل هستند اگر زاويه بین آنها 90° باشد. صفر به این معنی است که همبستگی $+1$ است و -1 به این معنی است که همبستگی -1 است. ورودی (انتری) با وکتور بلندتر قابل تشخیص تر از ورودی‌هایی با وکتور کوتاه‌تر هستند و آنهايی که در مرکز باي‌پلات قرار گرفتند قابل تشخیص نیستند.

از نمودار باي‌پلات برای تعیین ترکیب‌پذیری عمومی و ترکیب‌پذیری خصوصی، بهترین ژنتیپ محک و بهترین دورگ‌ها با رسم average tester coordinate (ATC) برای ورودی‌ها (انتری‌ها) استفاده می‌شود. فاصله افقی هر انتری ژنتیپ‌هایی با حرف کوچک) از محور عمودی مختصات ژنتیپ محک متوسط و آن هم در جهت علامت پیکان محور افقی بیانگر مقدار مشت ترکیب‌پذیری عمومی است. از آنجائیکه اثر ترکیب‌پذیری عمومی و ترکیب‌پذیری خصوصی متعماد (اورتوگونال) هستند، فاصله ژنتیپ‌ها با محور افقی مختصات ژنتیپ محک متوسط نشانگر ترکیب‌پذیری خصوصی برای ژنتیپ‌های مختلف است ($42\text{--}43^\circ$).

ژنتیپ محکی به عنوان بهترین ژنتیپ محک در ترکیب با سایر انتری‌ها شناخته می‌شود که در مرکز نقطه دایره مرکزی باشد، در واقع ژنتیپ محک ایده‌آل ژنتیپی است که کمترین فاصله را با محور افقی مختصات ژنتیپ محک متوسط را داشته و در جهت علامت پیکان این محور باشد (44°).

از نمودار چند ضلعی برای تشخیص بهترین دورگ‌های ممکن از تلاقي بین انتری‌ها و ژنتیپ‌های محک استفاده شد. به این منظور ژنتیپ‌هایی (انتری‌هایی) که دورترین فاصله را از مبدأ باي‌پلات دارند توسط خطوط راست بهم متصل و یک چند ضلعی که سایر ژنتیپ‌ها در درون آن قرار می‌گیرند را به وجود می‌آورند. خطوط عمودی در اطراف چند ضلعی ترسیم می‌شود که از مبدأ باي‌پلات شروع شده و باي‌پلات را به چند ناحیه تقسیم می‌نماید (44°).

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب تلاقي‌های دی‌آل بر اساس روش ۲ گریفینگ در جدول ۱ مشاهده می‌شود که اختلافات معنی‌داری ($p < 0.01$) بین ژنتیپ‌ها و ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی برای صفات مورد بررسی مشاهده شد. بنابراین امکان ارزیابی ژنتیکی نتایج حاصل از تلاقي دی‌آل یک طرفة برای بررسی توانایی ترکیب‌پذیری عمومی و ترکیب‌پذیری خصوصی فراهم بود. لازم به ذکر است که نرمال بودن داده ها و همگنی واریانس‌ها برای صفات مورد بررسی تایید شد. همچنین اثر شرایط محیطی (سال و مکان) برای صفات عملکرد کل ماده خشک، ارتفاع و سرعت رشد مجدد و برهمکنش ترکیب‌پذیری عمومی \times محیط و

آبیاری گردید و آبیاری‌های بعدی هر هفت روز یکبار انجام شد. صفات عملکرد ماده خشک کل (گرم در بوته)، ارتفاع (سانتی‌متر)، سرعت رشد مجدد (سانتی‌متر) در فصل زراعی در سال ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ اندازه گیری و تجزیه و تحلیل تجزیه مرکب برای دو سال و دو مکان انجام شد. در هر برداشت، ۲۰ گیاه در مرحله 20% گلدهی از دو خط وسط هر کرت در هر تکرار برداشت شده و عملکرد علوفه هر بوته (گرم در بوته) اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری عملکرد ماده خشک، نمونه‌ای تصادفی از هر کرت در پاکت‌های کاغذی قرار داده شد و در آون با درجه حرارت 70°C برای ۴۸ ساعت خشک شدند. مجموع میانگین گیاهان برداشت شده در هر چین (در کل چهار چین) در هر تکرار به عنوان عملکرد ماده خشک کل (گرم در بوته) در نظر گرفته شد. همچنین ارتفاع گیاه در زمان برداشت اندازه گیری شدند و میانگین آن‌ها در محاسبات استفاده شد. برای اندازه گیری سرعت رشد مجدد، ارتفاع گیاهان، 14° روز بعد از برداشت اندازه گیری شد. میانگین ارتفاع و سرعت رشد مجدد مربوط به چهار برداشت در سه تکرار برای هر سال در تجزیه مرکب دو سال و دو مکان آنالیز شد. ژنتیپ به عنوان فاکتور ثابت و تکرار و محیط (دو سال و دو مکان)، به عنوان فاکتور تصادفی در نظر گرفته شد.

مدل ریاضی و تجزیه داده‌ها

برای انجام تجزیه‌های آماری، ابتدا نرمال بودن خطاهای آزمایشی با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و همگن بودن واریانس‌ها در نرمافزار SAS 9.2 آزمون شد (31°). تجزیه واریانس دی‌آل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بر مبنای روش دو (Method II) گریفینگ (9°) و با استفاده از برنامه SAS، یانگ و کانگ (45°) صورت گرفت.

در این تحقیق از روش GGE باي‌پلات برای تجزیه داده‌های دی‌آل که بر اساس تجزیه به مقادیر منفرد به صورت زیر استفاده شد: در GGE biplot، میانگین و پایداری ژنتیپ‌ها به GCA و SCA و والدین اشاره می‌کند. مقادیر میانگین برای هیبریدها و جمعیت‌های والدی بین محیط‌ها (دو مکان و دو سال آزمایش) برای تشکیل ماتریس داده‌های دی‌آل استفاده شد. برای استخراج دو مولفه اصلی (PC_1 و PC_2)، هر جمعیت با یک ردیف و یا یک ستون داده ها، بعد از بدست آوردن دو مولفه اصلی از داده‌های تنظیم شده مرتبط است. مدل برای تجزیه داده ها عبارت است از:

$$Y_{ij} - \beta_j = \lambda_1 \varepsilon_{i1} \eta_{j1} + \lambda_2 \varepsilon_{i2} \eta_{j2} + \varepsilon_{ij}$$

بطوريکه ε_{ij} مقادیر ژنتیپی ترکیبات بین انتری i . محک j برای یک صفت است، β_j میانگی مقادیر تمام ترکیبات با محک j است، λ_1 و λ_2 مقادیر منفرد برای PC_1 و PC_2 است. ε_{i1} و ε_{i2} به ترتیب مقادیر ویژه PC_1 و PC_2 برای انتری i هستند، η_{j1} و η_{j2} به ترتیب مقادیر ویژه PC_1 و PC_2 برای ژنتیپ محک j هستند. ε_{ij} باقیمانده مدل برای انتری i و محک j است. در تلاقي‌های دی‌آل، یک والد هم انتری و هم محک است. روش آماری توسط یان و هانت (42°) و یان و کانگ (43°) تقریب زده می‌شود:

ترکیب‌پذیری عمومی و برعکس ژنوتیپ‌هایی که در انتهای منفی هستند دارای کمترین ترکیب‌پذیری هستند. بنابراین ترکیب لاین‌ها از نظر ترکیب‌پذیری عمومی به صورت نیک‌شهری <سیلوانا> قهاؤند >بمی< سکوئل >رهنائی > مهاجران و کوزره بود. فاصله هر لاین از بردار میانگین محک، ترکیب‌پذیری خصوصی آن را برآورد می‌کند. در واقع، این شاخص تمایل هر لاین اینبرد جزئی می‌باشد. یونجه را برای تولید هیبریدهای جزئی بهتر با لاین‌های اینبرد جزئی دیگر نشان می‌دهد. به این ترتیب لاین‌های اینبرد ترکیب‌پذیری خصوصی بالاتری نسبت به بقیه هستند. در این اشکال محور میانگین تسترهای معیاری جهت تقسیم‌بندی لاین‌ها به گروههای هتروتیک است. لاین‌های هر طرف این خط یک گروه هتروتیک را تشکیل می‌دهند. به این ترتیب دو گروه هتروتیک وجود خواهد داشت. گروه اول شامل نیک‌شهری، بمی، سکوئل و مهاجران و گروه دوم شامل سیلوانا، قهاؤند، رهنائی و کوزره است. با استفاده از این روش، یان و هانت (۴۲) هفت رقم گندم را از نظر مقاومت به فوزاریم مطالعه و علاوه بر بررسی ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی ژنوتیپ‌ها، ارقام را به دو گروه هتروتیک تقسیم کردند. بهترین محک، اولاً باید بتواند ژنوتیپ‌ها را بهتر از هم تشخیص دهد، ثانیاً باید دارای عملکرد و نمود خوبی باشد. بر این اساس ژنوتیپی به عنوان بهترین شناخته می‌شود که نزدیک به میانگین تسترهای و متمایل به انتهای مثبت محور میانگین تسترهای قرار گرفته باشد.

ترکیب‌پذیری خصوصی \times محیط معنی‌دار شد (جدول ۱). واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها در دو مکان و سال آزمایش می‌تواند به دلیل عوامل زیستی متفاوت باشد همچنین ذکر این نکته ضروری است که گیاهان در سال دوم آزمایش استقرار بیشتری یافته‌اند و عملکرد و ویگور بیشتری داشته‌اند. اثر شرایط محیطی روی ژنوتیپ‌ها برای بیان عملکرد و اجزا عملکرد در یونجه در مطالعات دیگر توسعه جولیر و همکاران (۱۴) و ملیج و همکاران (۱۹) مشاهده و گزارش شده است.

نمودارهای دو بعدی داده‌های دی‌آل برای صفات عملکرد ماده خشک، ارتفاع و سرعت رشد مجدد برای اینبرد لاین‌های نسبی یونجه بر اساس میانگین داده‌های دو سال و دو مکان ارائه شده است. لازم به ذکر است که در این شکل‌ها، حروف کوچک موقعیت ارقام یا لاین‌های اینبرد جزئی و حروف بزرگ موقعیت محک‌ها را نشان می‌دهند و در این روش هر ژنوتیپ یا والد هم به عنوان لاین و هم به عنوان محک در نظر گرفته می‌شود (۴۲). موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است.

نمودار دو بعدی رسم شده برای صفت عملکرد ماده خشک ۶۹/۴ درصد از واریانس داده‌ها را توضیح می‌دهد (شکل ۱ الف، ب، ج و د). با استفاده از موقعیت میانگین محک‌ها می‌توان ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی ژنوتیپ‌ها را تعیین کرد. بدین منظور از مبدأ مختصات خطی به میانگین محک‌ها وصل و به دو طرف ادامه می‌یابد تا دیواره‌های نمودار را قطع کند. این خط بردار میانگین محک‌ها نام دارد و ژنوتیپ‌هایی که در انتهای مثبت آن هستند، دارای بیشترین

جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب با روش گریفینگ برای صفات عملکرد ماده خشک علوفه، ارتفاع گیاه و سرعت رشد مجدد در دو مکان و دو سال (چهار محیط)

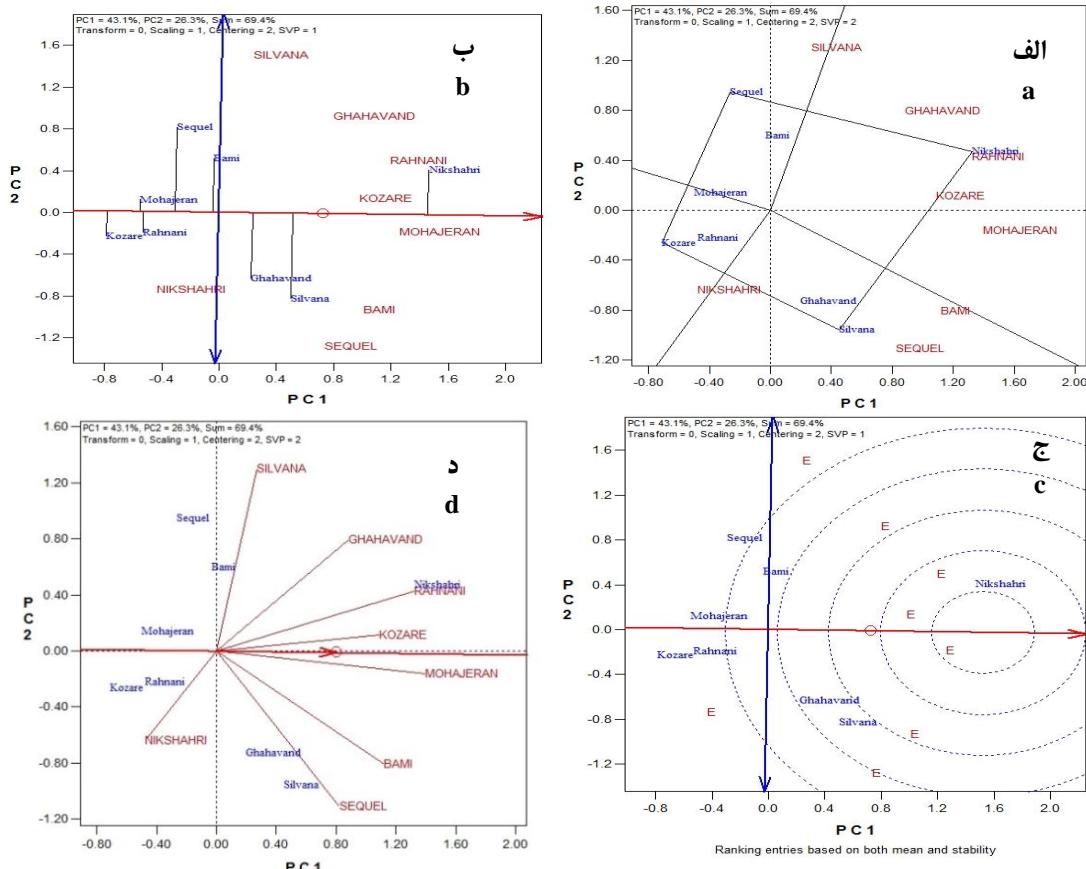
Table 1. Combined analysis of variance in Griffing method for traits of forage dry matter yield (DMY), plant height and regrowth rate over two locations and two years (4 environments)

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد کل ماده خشک (گرم در گیاه)	ارتفاع (سانتی‌متر)	رشد مجدد (سانتی‌متر)
تکرار	۲	۳۰۶/۷۸ ^{ns}	۱۹/۳۲ ^{ns}	۶/۲۵ ^{ns}
محیط	۳	۷۶۱۱۹۷/۱۱ ^{**}	۱۶۱۶/۱۸ ^{**}	۱۷۰۹/۴۴
تکرار \times محیط	۶	۲۰۳/۱۷	۴۴/۴۴	۹/۱۵ ^{**}
ورودی	۳۵	۴۸۲۹/۸۵ ^{**}	۲۴۲/۷۰ ^{**}	۹۵/۵۵ ^{**}
ترکیب‌پذیری عمومی	۷	۷۲۰۷/۲۳ ^{**}	۲۹۷/۳۲ ^{**}	۱۱۲/۸۲ ^{**}
ترکیب‌پذیری خصوصی	۲۸	۴۲۳۵/۲۶ ^{**}	۲۲۷/۷۹ ^{**}	۹۱/۲۴ ^{**}
ورودی \times محیط	۱۰۵	۱۰۶۷/۲۲ ^{**}	۶۴/۲۵ ^{**}	۳۰/۸۲ ^{**}
ترکیب‌پذیری عمومی \times محیط	۲۱	۱۸۶۵/۳۵ ^{**}	۹۰/۵۳ ^{**}	۳۸/۵۷ ^{**}
ترکیب‌پذیری خصوصی \times محیط	۸۴	۸۶۷/۶۶ ^{**}	۵۶/۴۴ ^{**}	۲۸/۸۷ ^{**}
اشتباه	۲۸۰	۱۴۴/۴۴	۱۳/۹۸	۶/۹۶
ضریب تغییرات (درصد)	۷/۸۱	۴/۷۷	۴/۱۰	۶/۱۰

*ns و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

بخش‌ها هستند. لاین‌هایی که نزدیک مبدأ قرار می‌گیرند، ترکیب‌پذیری ضعیفی با تمام محک‌ها دارند و به عوض شدن محک واکنش زیادی نشان نمی‌دهند. از آنجاییکه لاین اینبرد جزئی نیکشهری و تستر قهاؤند، سیلوانا، رهنانی، مهاجران و کوزره در یک بخش قرار گرفته‌اند بنابراین لاین نیکشهری با این اینبردها از ترکیب‌پذیری بسیار زیادی برخوردار است. همچنین بدلیل اینکه بر عکس آن نیز وجود دارد و اینبرد جزئی قهاؤند همچنین سیلوانا نیز با تستر نیکشهری در یک بخش دیگر با هم بودند. این اینبردها از ترکیب‌پذیری بسیار زیادی برخوردار هستند و تلاقي آنها بسیار هتروتیک است. لاین سیلوانا و قهاؤند علاوه بر تستر نیکشهری با تسترهای بمی و سکوئل در یک بخش قرار گرفتند که نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری خوب آنهاست. اینبرد لاین‌های کوزره، رهنانی، مهاجران، سکوئل و بمی در بخش‌هایی که قرار داشتند، محک‌های آن‌ها در بخش دیگری بودند، این موضوع نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری پائین این ارقام با هم است (شکل ۱-ب).

با توجه به شکل ۱ الف ژنوتیپ یا محک نیکشهری به عنوان بهترین محک شناخته شد. نمایش چند وجهی نمودار دو بعدی شکل ۲ الف روش بسیار مناسبی برای بررسی الگوها و تفسیر اثر متقابل بین ژنوتیپ‌ها و محک‌ها بود. این چند وجهی از طریق وصل کردن ژنوتیپ‌هایی حاصل می‌شود که بیشترین فاصله را از مبدأ مختصات دارند، به طوریکه سایر لاین‌ها داخل این چند وجهی قرار گیرند. از مبدأ بر هر ضلع چند وجهی یا ادامه آن خطی عمود می‌شود به طوری که شکل را به چند بخش تقسیم کنند. به این ترتیب هر لاین و هر محک ناگزیر داخل یکی از این بخش‌ها قرار می‌گیرد. ویژگی جالب توجه این چند وجهی این است که هر محک در همان بخشی قرار می‌گیرد که بهترین لاین‌های ترکیب‌شونده با آن قرار گرفته‌اند. در بین ژنوتیپ‌هایی که در یک بخش واقع می‌شوند، بهترین ژنوتیپ ترکیب‌شونده با محک‌های آن بخش ژنوتیپی است که در راس چند وجهی در همان بخش قرار گرفته است. لاین‌هایی که در گوشه‌های چند وجهی قرار گرفته‌اند بهترین ترکیب شونده‌ها با محک‌های بخش خودشان و ضعیفترین ترکیب شونده با محک‌های سایر



شکل ۱-۱-نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آل برای صفت عملکرد کل ماده خشک علوفه هشت اینبرد جزئی یونجه. الف: نمایش موقعیت لاین‌ها، محک‌ها و میانگین محک‌ها. ب: نمایش چند وجهی و موقعیت لاین‌ها و محک‌ها. ج: ترسیم محور میانگین لاین‌ها جهت تعیین روابط بین آنها. د: رتبه‌بندی محک‌ها بر اساس بهترین محک. حروف کوچک نشان‌دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها است. دایره موقعیت میانگین محک‌ها را نشان می‌دهد.

Figure 1. The GGE biplot based on the eight of partially inbred line of alfalfa for trait of forage dry matter yield. A: Average tester coordinate (AEC) view of the lines and testers. B: Polygon vie of the bi-plot show the lines and testers position. C: The vector view of the cultivars to show relationship among them. D: Ranking of testers base ideal tester.

جزئی کوزره و رهنانی و سکوئل و بمی در بخش‌هایی که قرار داشتند، محک‌های آن‌ها در بخش دیگری بودند، این موضوع نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری پائین این ارقام با هم بود (شکل ۲-۲). براساس نواحی چهارگانه در (شکل ۲-ج) ارقام به سه گروه تقسیم‌بندی شدند، بطوریکه گروه اول شامل اینبردهای سیلوانا، مهاجران، رهنانی، کوزره، گروه دوم شامل اینبردهای نیکشهری، بمی و سکوئل است و اینبردهای گروهی جدا قرار گرفت. زاویه بین محور لاین‌ها نیز همبستگی با شباهت لاین‌ها را نشان می‌دهد. این زاویه هر چقدر کوچک‌تر باشد همبستگی ارقام بیشتر است. بر اساس این زاویه بین ها امکان‌پذیر است. همچنین شکل ۱ د برای گروه‌بندی محک‌ها بر اساس بهترین محک برای صفت عملکرد علوفه خشک استفاده شد. بهترین محک باید دارای عملکرد بالایی بوده و همچنین پایدار نیز باشد. به عبارت دیگر دارای ترکیب‌پذیری عمومی بالا بوده و ترکیب‌پذیری خصوصی پائینی داشته باشد. بر این اساس، موقعیت بهترین محک در این شکل با علامت پیکان مشخص شده است و در مرکز دوایر هم مرکزی رسم می‌شود، تسترهایی که به مرکز نزدیک‌تر باشند محک‌های مناسب‌تری هستند. بر این اساس ترتیب محک‌ها به صورت نیکشهری، سیلوانا، چهاروند، بمی، سکوئل، مهاجران، رهنانی و کوزره است.

همچنین، نمودار بای‌پلات مربوط به صفت سرعت رشد مجدد ۷۵/۶٪ از واریانس داده‌ها را توضیح می‌دهد (شکل ۳-الف-د). برای این صفت ترتیب لاین‌های اینبرد نسبی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی به صورت نیکشهری < سیلوانا > چهاروند ≈ مهاجران < بمی > سکوئل < کوزره > رهنانی بود. بهترین لاین‌های اینبرد از نظر ترکیب‌پذیری خصوصی نیز اکوتیپ‌های چهاروند، مهاجران، نیکشهری، سیلوانا، سکوئل، رهنانی، کوزره و بمی به ترتیب دارای ترکیب‌پذیری بالاتری نسبت به بقیه اینبردها بودند (شکل ۳-الف). از نظر صفت سرعت رشد مجدد، با توجه به محور میانگین محک‌ها دو گروه هتروتیک وجود دارد. گروه اول سیلوانا، چهاروند و رهنانی، گروه دوم شامل بمی، کوزره، سکوئل، مهاجران و نیکشهری است. با توجه به شکل ۳ الف تستر سیلوانا به عنوان بهترین تست شناخته شد. بر اساس نمایش چند وجهی نمودار دو بعدی (شکل ۳-ب)، اینبرد لاین نسبی نیکشهری و محک‌های چهاروند، بمی، کوزره و سکوئل در یک بخش قرار گرفتند. برای اینبرد مهاجران و محک چهاروند، رهنانی، بمی، کوزره و سکوئل در یک بخش قرار گرفتند، این موضوع ترکیب‌پذیری خوب آنها را نشان می‌دهد. بر عکس آن یعنی لاین نسبی چهاروند نیز با محک نیکشهری در یک بخش دیگر با هم بودند. این وضعیت نشان می‌دهد که این دو اینبرد از ترکیب‌پذیری بسیار زیادی برخوردار بودند و هیبرید آنها بسیار هتروتیک است. این امر برای اینبردهای نسبی چهاروند و مهاجران نیز اتفاق افتاد. اینبرد لاین‌های رهنانی، و همچنین کوزره، سکوئل و بمی که در بخش خود قرار داشتند و تسترهای آن‌ها در بخش دیگری بودند، ترکیب‌پذیری پائین این ارقام با هم را نشان می‌دهد (شکل ۳-ب). از نظر صفت سرعت رشد مجدد، لاین‌های اینبرد جزئی به سه گروه تقسیم می‌شوند. گروه اول شامل اینبردهای سیلوانا، چهاروند، گروه دوم رهنانی بمی، کوزره، سکوئل، گروه سوم مهاجران و نیکشهری است همچنین بر اساس زاویه بین لاین‌های اینبرد، زاویه بین لاین‌های کوزره، سکوئل و بمی بسیار کم

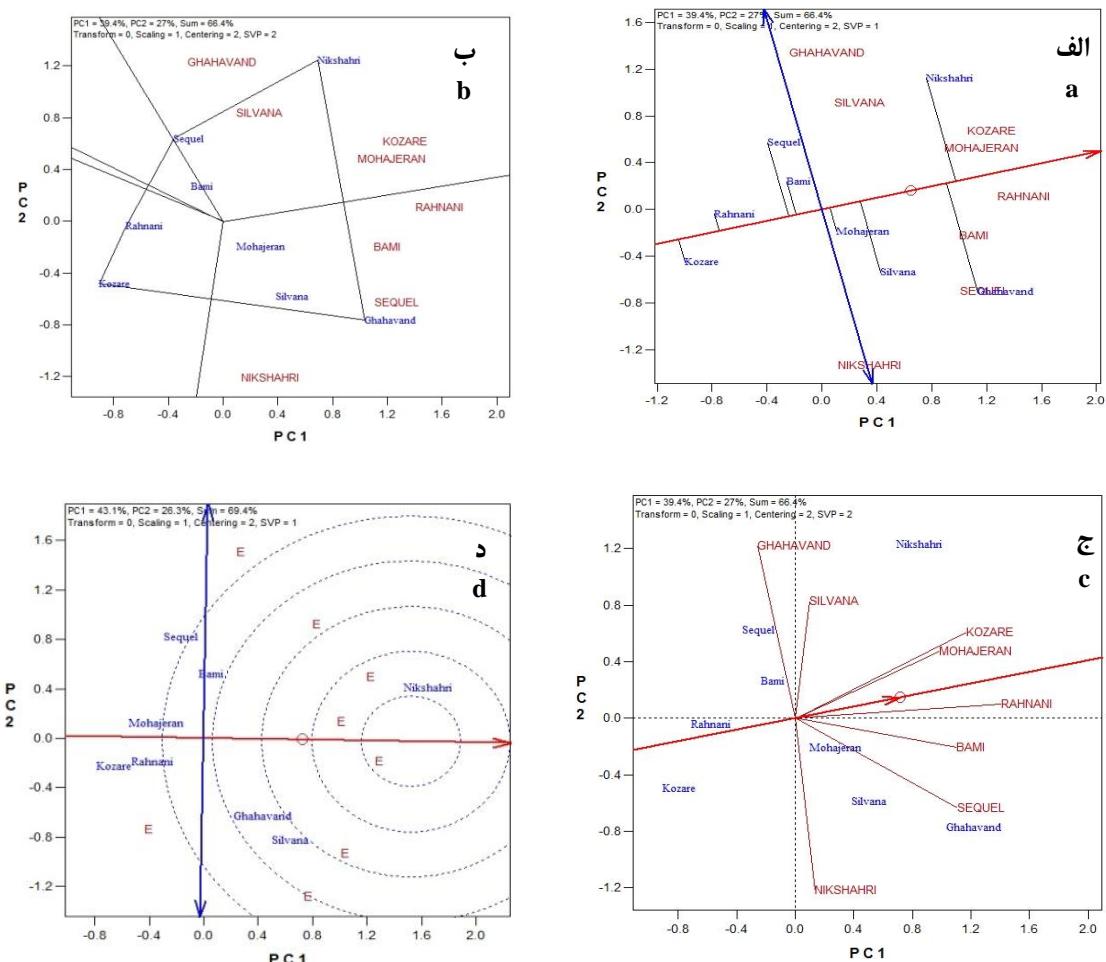
(شکل ۱-ج) برای گروه‌بندی ارقام و تعیین شباهت و عدم شباهت ژنتیک‌ها استفاده شد. براساس نواحی چهارگانه ارقام به سه گروه تقسیم‌بندی شدند. گروه اول شامل اینبردهای سیلوانا، چهاروند، رهنانی، کوزره، گروه دوم شامل اینبردهای مهاجران، بمی و سکوئل است و اینبردهای گروهی جدا قرار گرفت. زاویه بین محور لاین‌ها نیز همبستگی با شباهت لاین‌ها را نشان می‌دهد. این زاویه هر چقدر کوچک‌تر باشد همبستگی ارقام بیشتر است. بر اساس این زاویه نیز گروه‌بندی لاین‌ها امکان‌پذیر است. همچنین شکل ۱ د برای رتبه‌بندی محک‌ها بر اساس بهترین محک برای صفت عملکرد علوفه خشک استفاده شد. بهترین محک باید دارای عملکرد بالایی بوده و همچنین پایدار نیز باشد. به عبارت دیگر دارای ترکیب‌پذیری عمومی بالا بوده و ترکیب‌پذیری خصوصی پائینی داشته باشد. بر این اساس، موقعیت بهترین محک در این شکل با علامت پیکان مشخص شده است و در مرکز دوایر هم مرکزی رسم می‌شود، تسترهایی که به مرکز نزدیک‌تر باشند محک‌های مناسب‌تری هستند. بر این اساس ترتیب محک‌ها به صورت نیکشهری، سیلوانا، چهاروند، بمی، سکوئل، مهاجران، رهنانی و کوزره است.

نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آل ارتفاع گیاه برای اینبرد لاین‌های اینبرد جزئی بونجه مورد بررسی بر اساس میانگین داده‌های دو سال و دو مکان در شکل ۲ ارائه شده است. نمودار GGE2 با پلات شکل ۲-الف-د. بر اساس شکل ۲ الف، ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی ارتفاع بوته گیاهی به ترتیب به صورت نیکشهری ≈ چهاروند < سیلوانا > مهاجران < بمی > سکوئل < رهنانی > کوزره < سیلوانا > مهاجران < بمی > سکوئل < رهنانی > کوزره بود. همچنین لاین‌های اینبرد جزئی چهاروند، نیکشهری، سیلوانا، سکوئل دارای ترکیب‌پذیری خصوصی بالاتری نسبت به بقیه ارقام بودند. همچنین گروه‌های هتروتیک مشخص شده در این شکل به صورت چهاروند، مهاجران، سیلوانا و کوزره و گروه دوم شامل نیک شهری، بمی، سکوئل و رهنانی بود. با توجه به شکل ۲ الف، ژنتیک چهاروند به عنوان بهترین محک شناخته شد. از طرف دیگر نمایش چند وجهی نمودار دو بعدی نیز برای ارتفاع در شکل ۲ ب نشان می‌دهد که اینبردهای جزئی نیکشهری و تستر چهاروند و سیلوانا، کوزره و مهاجران در یک بخش قرار گرفته‌اند، اما لاین چهاروند و سیلوانا در یک بخش دیگر با تستر نیکشهری بودند، این وضعیت نشان می‌دهد که این اینبردها از ترکیب‌پذیری بسیار زیادی برخوردار بودند و هیبرید آنها بسیار هتروتیک است. مهاجران نزدیک به مبدأ قرار دارد و ترکیب‌پذیری ضعیفی با تمام تسترهای دارد. اینبرد نیکشهری اگرچه با تستر کوزره و مهاجران در یک بخش قرار داشتند ولی بر عکس آن وجود نداشت، ولی این امر نشان می‌دهد که آنها نیز ترکیب‌پذیری خوبی دارند. لاین چهاروند نیز با تسترهای سکوئل، بمی، رهنانی و نیکشهری در یک بخش قرار داشتند، در نتیجه ترکیب‌پذیری خوبی با این محک‌ها داشت. همانطور که ذکر شد فقط حالت بر عکس آن با محک نیکشهری وجود دارد، بنابراین ترکیب این دو بسیار هتروتیک است. اینبرد لاین‌های

برتری را از نظر عملکرد ماده خشک علوفه، ارتفاع، سرعت رشد مجدد ارائه دادند. اگرچه تلاقی مثل قهاآنند \times مهاجران با منشا یکسان همدانی عملکرد علوفه، ارتفاع و سرعت رشد مجدد با SCA، هتروزیس میانگین والدین و والد برتر مشت معنی دار داشتند. اگرچه تعداد بیشتری از تلاقی‌ها با عملکرد بالاتر، از تلاقی والدین با منشاً متفاوت از نظر آب و هوای درجه خواب متفاوت تولید شده‌اند. وجود اثرات هترووتیک معنی دار برای صفات بررسی شده، نشان داد که امکان استفاده از خودباروری و تلاقی بین اینبردهای جزئی منتخب (S_2) وجود دارد. برای به دست آوردن حداکثر هتروزیس، با تلاقی بهترین سینگل کراس‌ها و تولید هیریدهای دوبل می‌توان به حداکثر هتروزیس، ویگور بیشتر و بهبود عملکرد کمی علوفه به همراه کیفیت مورد انتظار علوفه با تولید هیریدهای آزاد رسید.

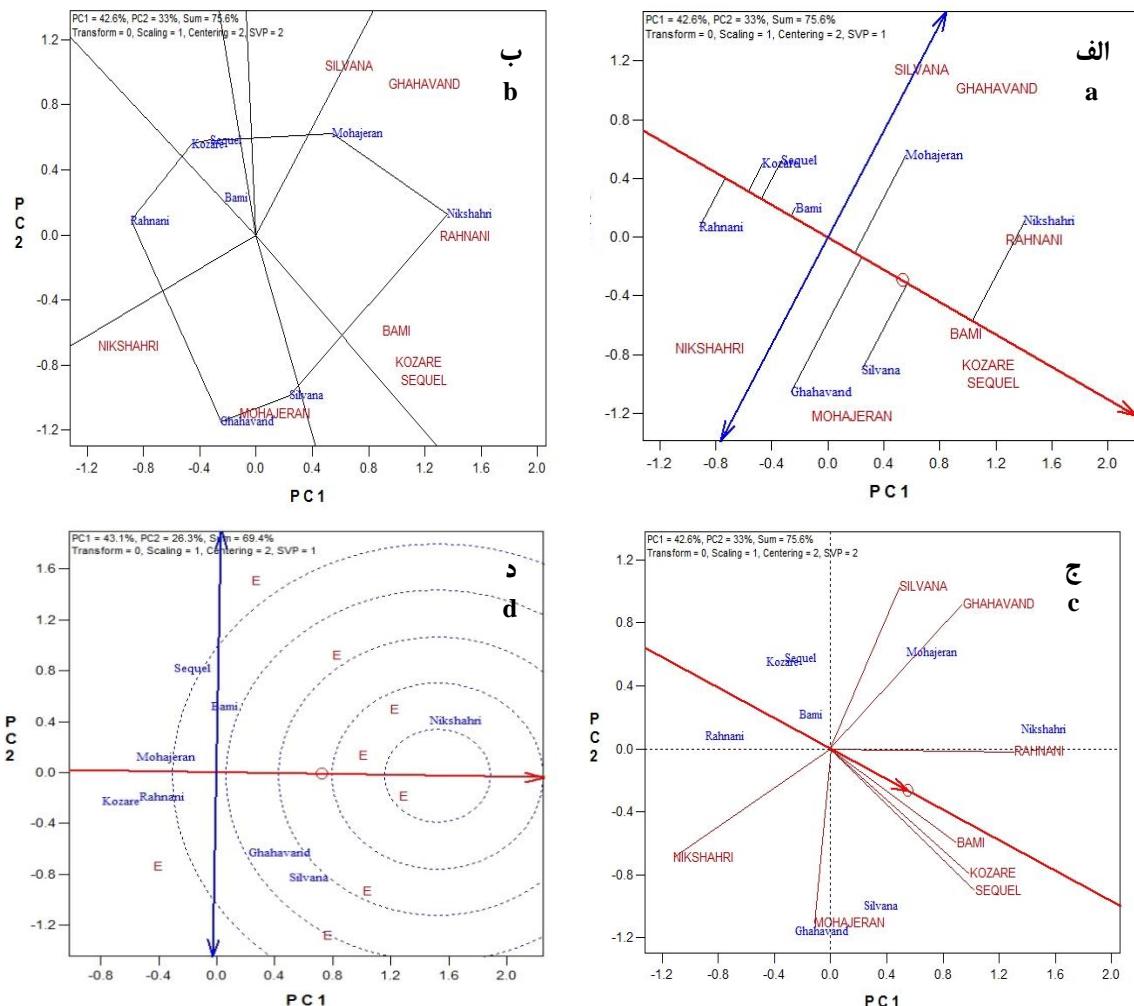
است و بنابراین شباهت بیشتری دارند (شکل ۳-ج). از طرف دیگر با توجه به (شکل ۳-د) ترتیب اینبردهای نسبی یونجه به صورت مناسب‌ترین محک به صورت نیک‌شهری، سیلوانه، قهاآنند، مهاجران، بمی، سکوئل، کوزره و رهانی بود.

نتایج تجزیه دی‌آل نشان داد که صفات زراعی بررسی شده توسط عمل افزایشی ژن‌ها، از طریق افزایش تجمیع فروانی آل‌های مطلوب کنترل می‌شوند که در نتیجه اثرات GCA معنی دار بود. همچنین اثرات غیرافزایشی ژن‌ها از طریق برهمنش ژن‌های مکمل ناشی از اثرات معنی دار SCA نیز در کنترل ژنتیکی صفات نقش دارد. توجه به این نکته ضروری است که در گیاهان اتوترپاپوئید، GCA شامل هر دو اثرات افزایشی و غالب است. نتیجه این مطالعه نشان داد که ترکیب بین دو اینبرد برگرفته شده از یونجه‌هایی از مناطق آب و هوایی مختلف با نمره خواب متفاوت هیریدهای



شکل ۲- نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آل برای صفت ارتفاع گیاه هشت اینبرد جزئی یونجه. الف: نمایش موقعیت لاین‌ها، محک‌ها و میانگین محک‌ها. ب: نمایش چند وجهی و موقعیت لاین‌ها و محک‌ها. ج: ترسیم محور میانگین لاین‌ها و محک‌ها. د: رتبه‌بندی محک‌ها بر اساس بهترین محک. حروف کوچک نشان‌دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها است. دایره موقعیت میانگین محک‌ها را نشان می‌دهد.

Figure 2. The GGE bi-plot based on the eight of partially inbred line of alfalfa for trait plant height. A: Average tester coordinate (AEC) view of the lines and testers. B: Polygon vie of the bi-plot show the lines and testers position. C: The vector view of the cultivars to show relationship among them. D: Ranking of testers base ideal tester.



شکل ۳- نمودار دو بعدی داده های دی آلل برای صفت سرعت رشد مجدد هشت اینبرد جزئی یونجه. الف: نمایش موقعیت لاین ها، محکها و میانگین محکها. ب: نمایش چندوجهی و موقعیت لاین ها و محکها. ج: ترسیم محور میانگین لاین ها جهت تعیین روابط بین آنها. د: رتبه بندی محکها بر اساس بهترین محک. حروف کوچک نشان دهنده لاین ها و حروف بزرگ نشان دهنده محکها است. دایره موقعیت میانگین محکها را نشان می دهد.

Figure 3. The GGE biplot based on the eight of partially inbred line of alfalfa for trait of regrowth rate. A: Average tester coordinate (AEC) view of the lines and testers. B: Polygon vie of the biplot show the lines and testers position. C: The vector view of the cultivars to show relationship among them. D: Ranking of testers base ideal tester.

تشکر و قدردانی

از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج و اراک، بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه ای برای حمایت و در اختیار قرار دادن امکانات و از بخش تحقیقات غلات به دلیل در اختیار قرار دادن گلخانه برای انجام تلاقي های مورد نیاز این تحقیق سپاسگزاری می شود.

منابع

- Al Lawati, A.H., C.A. Pierce, L.W. Murray and I.M. Ray. 2010. Combining ability and heterosis for forage yield among elite alfalfa core collection accessions with different fall dormancy responses. *Crop Science*, 50: 150-158.
- Bertoria, L., C. Lopez and R. Burak. 2006. Biplot analysis of forage combining ability in Maize landraces. *Crop Science*, 46(3): 1346-1353.
- Bhandari, H.S., C.A. Pierce, L.W. Murray and I.M. Ray. 2007. Combining abilities and heterosis for forage yield among high yielding accessions of the alfalfa core collection. *Crop Science*, 47: 665-673.
- Bingham, E.T., R.W. Groose, D.R. Woodfield and K.K. Kidwell. 1994. Complementary gene interactions in alfalfa are greater in autotetraploids than diploids. *Crop Science*, 34: 823-829.
- Brummer, E.C. 1999. Capturing heterosis in forage crop cultivar development. *Crop Science*, 39: 943-954.
- Carelli, M., C. Scotti, G. Gnocchi, D. Kertikova, L. Ferrari and P. Gaudenzi. 2006. Genetic diversity in breeding for narrow genetic based cultivar models in alfalfa. In Proceedings of the XXVI EUCARPIA fodder crops and amenity grasses section and XVI *Medicago spp.*, 75-79 pp., Group Joint Meeting Breeding and Seed Production for Conventional and Organic Agriculture, Perugia.
- Darvishzadeh, R., I. Bernousl, S. Poormohammad-Kiani, G. Dechamp-Guillaume and A. Sarrafi. 2009. Use of GGEbiplot methodology and griffing diallel method for genetic analysis of partial resistance to phoma black stems disease in sunflower. *Acta Agriculturae Scandinavica, Soil and Plant Science*, 59: 485-490.
- Demarly, Y. 1979. The concept of linkat. In: Zeven, A. C. and A. M. Van Harten, (eds.) Proc. Conference Broadening Genetic Base of Crops. 257-265 pp., Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, the Netherlands.
- Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, 9: 463-493.
- Hayman, B.I. 1954. The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, 39: 789-809.
- Hill, R.R., Jr., J.S. Shenk and R.F. Barnes. 1988. Breeding for yield and quality. In: Hanson, A.A., D. K. Barnes and R. R. Hill (eds.) Alfalfa and alfalfa improvement. 809-825 pp., ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI.
- Hill, R.R. Jr. 1983. Heterosis in population crosses of alfalfa. *Crop Science*, 23: 4850.
- Holland, J.B. and Bingham, E.T. 1994. Genetic improvement for yield and fertility of alfalfa cultivars representing different eras of breeding. *Crop Science*, 34: 953-957.
- Julier, B., C. Huyghe and C. Ecale. 2000. Within and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology and yield. *Crop Science*, 40: 365-369.
- Katic, S., S. Vasiljevic, Z. Lusic, J. Radovic, D. Milic. 2008. Previous and future directions of perennial legumes selection. In: Serbia. Proceedings of the International Conference: Conventional and molecular breeding of field and vegetable crops. 557-563pp., Novi Sad-Serbia.
- Khodarahmpour, Z. and M. Motamedi. 2016. Study of genetic diversity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes via multivariate analysis. *Journal of Crop Breeding*, 8: 163-169 (In Persian).
- Kiani, G., G.A. Nematzadeh, S.K. Kazemitabar and O. Alishah. 2007. Combining ability in cotton cultivar for agronomic traits. *International Journal of Agriculture and Biology*, 9: 521-522.
- Michaud, R., W.F. Lehman, M.D. Rumbaugh. 1988. World distribution and historical development. In: Hanson, A.A., D. K. Barnes and R.R. Hill (eds.) Alfalfa and alfalfa improvement, 26-82 pp., ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI.
- Milić, D., S. Katić, A. Mikić, D. Karagić, J. Gvozdanović-Varga, S. Petrović and J. Bočanski, 2011. Genetic control of agronomic traits in alfalfa (*M. sativa* ssp. *sativa* L.). *Euphytica*, 182: 25-33.
- Milić, D., S. Katić, A. Mikić and Karagić, D. 2010. Heterotic response from a diallel analysis between alfalfa cultivars of different geographic origin. In Cristian, H. (eds.) Sustainable use of genetic diversity in forage and turf breeding, 551-556 pp., Springer, New York.
- Mohammadzadeh Jalaly, H., M. Valizadeh, V. Nasrollahzade asl, J. Emaratpardaz, M. Yusefi and S. Moharramnejad5. 2017. A study of genetic diversity and heritability in some of agronomic traits in alfalfa half-sib families. *Journal of Crop Breeding*, 9: 82-88 (In Persian).
- Monirifar, H. and R. Mazlomi. 2014. Repeated screening for selection of salt tolerant alfalfa ecotypes. *Journal of Crop Breeding*, 6: 89-100 (In Persian).
- Monirifar, H. 2016. Development and evaluation of a synthetic alfalfa variety for tolerance to salinity. *Journal of Crop Breeding*, 8: 176-182 (In Persian).
- Pandey, S. K., G.P. Shukla, Sh. Kumari and H.C. Pandey. 2012. Selfing and Hybridization potentials in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Agricultural Science Research Journal*, 2(4): 140-144.
- Riday, H. and E.C. Brummer. 1999. Heterosis in alfalfa *Medicago sativa* subsp. *sativa* x subsp. *falcata*. <http://www.naaic.org/TAG/TAGpapers/riday/riday.html>. Accessed 09 Oct 1999
- Riday, H. and E.C. Brummer. 2002. Forage yield heterosis in alfalfa. *Crop Science*, 42: 716-723.
- Riday, H., E.C. Brummer, T.A. Campbell, D. Luth and P.M. Cazcarro. 2003. Comparisons of genetic and morphological distance with heterosis between *Medicago sativa* subsp. *sativa* and subsp. *falcata*. *Euphytica*, 131: 37-45.
- Rotili, P. 1976. Performance of diallel crosses and second generation synthetics of alfalfa derived from partly inbred parents. I. Forage yield. *Crop Science*, 16: 247-251.
- Rotili, P. and L. Zannone. 1974. General and specific combining ability in alfalfa at different levels of inbreeding and performance of second generation synthetics measured in competitive conditions. *Euphytica*, 23: 569-577.
- Rotili, P., G. Gnocchi, C. Scotti and L. Zannone. 1999. Some aspects of breeding methodology in alfalfa. <http://www.naaic.org/TAG/TAGpapers/rotili/rotilipapers.html>

31. SAS Institute. 2008. SAS system for Windows: Release 9.2. SAS
32. Scotti, C. and E.C. Brummer. 2010. Creation of heterotic groups and hybrid varieties. In Huyghe, C. (eds.) Sustainable use of genetic diversity in forage and turf breeding, 509-518 pp., Springer, New York.
33. Scotti, C., M. Carelli, O. Calderini, F. Panara and P. Gaudenzi. 2011. Agronomic and molecular analysis of heterosis in alfalfa. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization, 9: 288-290.
34. Segovia-Leirma, A., L.W. Murray, M.S. Townsend and I.M. Ray. 2004. Population-based diallel analyses among nine historically recognized alfalfa germplasms. Theoretical and Applied Genetics, 109: 1568-1575.
35. Shang, Y.I., L.I. Shao-Qin, L.I. Dian-Rong and T. Jian-Hual. 2006. GGE biplot analysis of diallel cross of *Brassica napus* L. Acta Agronomica Sinica, 32: 243-248.
36. Sriwatanapongse, S. and C.P. Wilsie. 1968. Intra- and intervariety crosses of *Medicago sativa* L. and *Medicago falcata* L. Crop Science, 8: 465-466.
37. Tucak, M., S. Popović, T. Cupić, V. Spanić, B. Šimić and V. Meglič. 2012. Combining abilities and heterosis for dry matter yield in alfalfa diallel crosses. Romanian Agricultural Research, 29: 72-77.
38. Tysdal, H.M. and T.A. Kiesselbach. 1944. Hybrid alfalfa. Journal of the American Society of Agronomy, 36: 649-667.
39. Veronesi, F., C. Huyghe and I. Delgado. 2006. Lucerne breeding in Europe: results and research strategies for future developments. In: Lloveras, JA. Gonzalez-Rodriguez, O. Vazquez-Yanez, J. Pineiro., O. Santamaria, L. Olea and M.J. Poblaciones (eds.) Sustainable grassland productivity. 232-242 pp., Proceedings on the 21st General Meeting of the European Grassland Federation. Badajoz, Spain. Grassland Science in Europe.
40. Woodfield, D.R. and E.T. Bingham. 1995. Improvement in two allele autotetraploid populations of alfalfa explained by accumulation of favorable alleles. Crop Science, 35: 988-994.
41. Yan, W. 2001. GGEbiplot-a Windows application for graphical analysis of multi-environment trial data and other types of two-way data. Agronomy Journal, 93: 1111-1118.
42. Yan, W. and L.A. Hunt. 2002. Biplot analysis of diallel data, Crop Science, 42: 21-30.
43. Yan, W. and M.S. Kang. 2003. GGE Biplot Analysis: A Graphical Tool for Breeders, Geneticists, and Agronomists. CRC Press, Boca Raton, FL.
44. Yan, W., L.A. Hunt, Q. Sheng and Z. Szlavnics. 2000. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. Crop Science, 40: 597- 605.
45. Zhang, Y., M.S. Kang and R.R. Lamkey. 2005. DIALLEL-SAS05: a comprehensive program for Griffing's and Gardner-Eberhart analyses. Agronomy Journal, 97: 1097-1106.

Biplot and Heterosis Analysis in Half-Diallel Crosses from Second Selfing Generation of Alfalfa

Vida Ghotbi¹, Farhad Azizi², Mohammad Javad Zamani² and Afshin Rozbehani³

1-Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran, (Corresponding author: v.ghotbi@areeo.ac.ir)

2- Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

3- Researcher, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Arak, Iran

Received: November 1, 2017

Accepted: February 5, 2018

Abstract

Heterotic groups distinguished among breeding populations provide basic information to help plant breeders to control heterosis consciously. Development of alfalfa free hybrids can provide heterosis through parents' selection with crossing between partially inbred lines from two or three generations of selfing. In order to study of combining ability for forage dry matter, height and regrowth rate, selected partially inbred lines from the second generation of eight ecotypes of alfalfa were evaluated in a half-diallel cross design. Field experiments were performed in a randomized complete block design with three replications, including eight parents and 28 hybrids (F_1) at Karaj and Arak during 2014-2015. Graphical GGE biplot method was applied to analyze the data. Based on the results of analysis of variance, mean square of GCA and SCA, and their interaction with environment were significant($p<0.01$). GGE biplot graphical method showed the highest positive GCA for Nikshahri and the highest amount of negative GCA for Kowzareh and Rahmani as parents of crosses for all traits. SCA was maximum for two specific parents, Nikshahri \times Ghahavand and Nikshahri \times Silvana crosses. Results also indicated that crossing between the Iranian partially inbreds (S_2) of alfalfa to produce free hybrids can provide opportunities to exploit heterosis potential and improve forage yields.

Keywords: Alfalfa, Biplot, Half-Diallel, General combining ability, Specific combinig ability, Selfing