دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

تجزیه نمودار دو وجهی و ارزیابی دورگ برتری در تلاقی‌های نیمه دی‌آلل نسل دوم خودباروری یونجه

ویدا قطبی[۱]، فرهاد عزیزی[۲]، محمد جواد زمانی[۲] و افشین روزبهانی[۳]

۱- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(نویسنده مسوول: v.ghotbi@areoo.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 دریافت: ۹۶/۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

تشخیص گروه‌های هتروتیک بین جمعیت‌های در حال اصلاح، اطلاعات بنیادی برای کنترل آگاهانه هتروزیس فراهم می‌کند. هیبریدهای آزاد در یونجه می‌توانند از طریق انتخاب والدین و تلاقی لاین‌های جزئی بدست آمده از دو تا سه نسل خودباروری آنها به منظور دستیابی به هتروزیس تولید شوند. به‌منظور 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 تلاقی نیمه دی‌آلل مورد ارزیابی قرار گرفتند. بذور ۲۸ دورگ نسل F_1 به همراه والدین در دو مکان کرج و اراک کشت و به مدت دو سال (۱۳۹۴-۱۳۹۳) ارزیابی شدند . از روش گرافیکی GGE biplot برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل استفاده گردید. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، میانگین مربعات ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی و برهم‌کنش 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 دو والد خاص، نیک‌شهری با قهاوند و نیک‌شهری با سیلوانا برای تمامی صفات بیشترین مقدار را داشت. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که در بین والدین مورد بررسی هتروزیس کافی برای تولید و معرفی ارقام دورگ وجود دارد، بنابراین امکان استفاده از خودباروری و تلاقی بین اینبردهای جزئی منتخب (S_2) برای به‌دست آوردن هتروزیس بیشتر، از طریق تلاقی بهترین سینگل‌کراس‌ها و تولید هیبریدهای دوبل با تولید هیبریدهای آزاد وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: بای‌پلات، ترکیب‌پذیری عمومی، ترکیب‌پذیری خصوصی، خودباروری، دی‌آلل، یونجه

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 به‌نژادی یونجه افزایش عملکرد، پایداری و کیفیت علوفه است (۳۹). ولیکن بهبود عملکرد یونجه به دلیل موانعی چون توارث تتراسومی، دگرگرده افشانی وابسته به حشرات، گل‌های دو جنسه و خصوصیات گیاهی، پیشرفت کندی داشته است (۵،۳۲). موفقیت در توسعه ارقام یونجه بستگی به روش به‌نژادی مورد استفاده دارد (۱۵). با کشف هتروزیس و استفاده از آن در برنامه‌های بهنژادی، افزایش عملکرد سرعت بیشتری یافته است. یکی از موانع استفاده از هتروزیس در یونجه اتوتتراپلوئید، 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،۱۱،۱۳،۲۰،۲۶،۳۸،۴۰). استفاده از هتروزیس در شبه- هیبرید[1] یونجه با تلاقی ژرم‌پلاسم‌های ژنتیکی متفاوت از طریق تشخیص گروه‌های هتروتیک پیشنهاد شده است (۵،۲۶). انتخاب والدین برای بدست آوردن حداکثر هتروزیس در تلاقی‌های یونجه از اهمیت زیادی برخوردار است (۱،۵،۳۰). الگوی واضح هتروتیک از تلاقی دی‌آلل نه کلون الیت ساتیوا و ۵ کلون فالکاتا[2] توسط رایدای و برومر (۲۶) مشاهده شد. همچنین میلیچ و همکاران (۲۰) در آزمایشی با ارزیابی هیبریدهای بین چندین منبع ژرم‌پلاسم در یک تلاقی دی‌آلل 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 توکک و همکاران (۳۷) نشان دادند که تولید نتاج برتر از نظر عملکرد علوفه از طریق تلاقی جمعیت‌هایی از یونجه با عملکرد بالا از مناطق جغرافیایی مختلف امکان‌پذیر است. از طرف دیگر ذکر شده است که خودباروری یونجه به همراه گزینش، موثرترین روش برای متمرکز شدن روی ساختار ژنتیکی شامل ژن‌ها و بلوک‌های 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 پس‌روی‌خویش‌آمیزی است (۲۴). پیشنهاد شده است که می‌توان از اثرات هتروزیس با ایجاد هیبریدهای آزاد از طریق تلاقی لاین‌های بدست آمده از دو تا سه نسل خودباروری استفاده کرد (۶،۳۰). خودباروری

1- Semi-hybrid
2- Falcata

در یونجه، یکنواخت کردن (هموژن کردن) مواد گیاهی را برای صفات زراعی امکان‌پذیر می‌کند، بطوریکه اشاره شده است که خودباروری به همراه گزینش موثرترین روش برای متمرکز شدن روی ساختار ژنتیکی شامل ژن‌های مطلوب و لینکات‌هاست، بطوریکه بهبود ارزش اصلاحی والدین امکان‌پذیر شود (۳۰). در حقیقت مفهوم لینکات به عنوان پایه‌ای برای هتروزیس برای غلبه بر برخی از تناقضات از مدل‌های آللی متعدد در یونجه ارائه شده است (۸). واژه، برهم‌کنش ژن‌های مکمل برای تعریف عمل ژن برای عملکرد در لینکات‌های دمارلی ابداع شد، با این تفسیر که بهترین شرایط آللی برای عملکرد وقتی هست که آلل‌های غالب مطلوب در همان لینکات جمع شوند و در حالت ریپالژن (ترانس) همبستگی داشته باشند (۴). بنابراین، لینکات‌ها، به عنوان واحدهای کاربردی، پراکنده و انتخابی می توانند هدف گزینش در یونجه باشند (۲۸). بنابراین آمیزش خویشاوندی و انتخاب برای عملکرد می تواند 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 هتروزیگوسیتی از طریق خودباروری با گزینش برای ویگور در بین و داخل نتاج خودبارور شده در شرایط تراکم زراعی است و یک مرحله بازیابی هتروزیگوسیتی با تلاقی بین کلون‌های برتر اینبردهای جزئی است (۳۰). همچنین اشاره شده است که در تمام نسل‌های خویش‌آمیزی والدی (S_o، S_1، S_2 و S_4)، ترکیب‌پذیری عمومی همیشه بسیار معنی‌دار است در حالیکه ترکیب‌پذیری خصوصی فقط در سطح S_2 خودباروری معنی‌دار می‌شود. بطور کلی، هر دو ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی با خویش‌آمیزی و تلاقی بهترین سینگل‌کراس‌های بدست آمده از والدین اینبرد نسبی افزایش می‌یابد (۲۸). بنابراین، با خودباروری، اثرات غیرافزایشی باید به همراه اثرات افزایشی برای بیان حداکثر ویگور در نظر گرفته شود. به نظر می‌رسد واریته‌های سینتتیک بر اساس چهار والد گیاهی گزینش شده بتوانند یک روش موثر برای بهبود عملکرد یونجه باشند (۲۹). در مطالعه‌ای، اینبردهای نسبی نسل دوم خودباروی برای عملکرد ماده خشک و سایر صفات انتخاب شدند و سپس برای بدست آوردن هیبریدهای ساده[1] تلاقی داده شدند (۳۳). این هیبریدها، تا نسل Syn_3 همراه با انتخاب تکثیر شدند برای اینکه والدین دبل‌کراس یا هیبریدهای آزاد را با چهار والد تشکیل دهند.

دانش ساختار ژنتیکی و نحوه توارث صفات مختلف به به‌نژادگران کمک می‌کند تا روش اصلاحی مناسبی را انتخاب کنند (۱۷). روش‌های مختلفی برای برآورد شاخص‌های ژنتیکی استفاده می‌شود، که تجزیه دی‌آلل با استفاده از روش گریفینگ یا هیمن از مهم‌ترین روش‌ها می‌باشند (۹،۱۰). یان و هانت (۴۲) یک روش ارزیابی سریعی که GGE biplot نامیده می‌شود را برای ارزیابی داده‌های دی‌آلل معرفی کردند. این تکنیک توانایی ترجمه و تفسیر تنوع فنوتیپی والدین را بر اساس نمودار گرفیکی با استفاده از PC_1 و PC_2 افزایش می‌دهد. GGE biplot به‌طور وسیعی برای تعیین ترکیب‌پذیری عمومی و پاسخ‌های هتروتیک استفاده می‌شود (۷،۳۶). روش GGE biplot برای داده‌های آزمایشات چند محیطی توسعه یافت که ژنوتیپ‌ها به عنوان ورودی (انتری) و محیط‌ها به عنوان تسترها هستند. روش GGE biplot همچنین برای دی‌آلل مرسوم ارجحیت دارد زیرا اثرات GCA و SCA جمعیت و برتری تلاقی‌ها و همین‌طور الگوی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها را به صورت توام می‌دهد (۲).

از آنجائیکه 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). منیری‌فر (۲۳) با استفاده از تنوع موجود در درون و بین اکوتیپ‌های مورد بررسی، با گزینش ژنوتیپ‌های متحمل در تحت شرایط تنش شوری، برای تولید واریته سینتتیک در یونجه اقدام نمود.

بنابراین با وجود تنوع وسیع ژنتیکی که در ارقام و اکوتیپ‌های یونجه وجود دارد، همچنین مزایای خودباروری و بازیابی هتروزیگوسیتی از طریق تلاقی بین کلون‌های برتر اینتردهای جزئی که اشاره شد، هدف از این مطالعه تجزیه و تحلیل دی آلل 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 خودبارروی از اکوتیپ‌ها و ارقام مختلف یونجه است، تا امکان دستیابی به بهترین تلاقی‌ها برای تولید واریته‌های هیبرید 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 بمی (کرمان)، قهاوند، کوزره و مهاجران (همدانی)، نیک شهری (سیستان و بلوچستان)، رهنانی (اصفهان)، سیلوانا (قره یونجه) و یک رقم سکوئل (استرالیا) به صورت طرح نیمه دی‌آلل (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 گلدان‌های قابل احیا در گلخانه در اواخر تابستان ۱۳۹۲ کشت شدند و گیاهچه‌های رشد یافته به مزرعه آزمایشی در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر– کرج و اراک در اوایل پائیز ۱۳۹۲ منتقل گردیدند. کرت‌های آزمایشی شامل چهار ردیف به طول دو متر و فاصله ردیف ۰/۵ 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

1- Simple Hybrids (SH)

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 ۲۰٪ گلدهی از دو خط وسط هر کرت در هر تکرار برداشت شده و عملکرد علوفه هر بوته (گرم در بوته) اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری عملکرد ماده خشک، نمونه ای تصادفی از هر کرت در پاکت‌های کاغذی قرار داده شد و در آون با درجه حرارت ۷۰°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 ۲۰ گیاه در زمان برداشت اندازه‌گیری شدند و میانگین آن‌ها در محاسبات استفاده شد. برای اندازه‌گیری سرعت رشد مجدد، ارتفاع گیاهان، ۱۴ 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. ژنوتیپ 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 نرمال‌بودن خطاهای آزمایشی با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و همگن بودن واریانس‌ها در نرم‌افزار SAS 9.2 آزمون شد (۳۱). تجزیه واریانس دی‌آلل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بر مبنای روش دو (Method II) گریفینگ (۹) و با استفاده از برنامه SAS، یانگ و کانگ (۴۵) صورت گرفت.

در این تحقیق از روش GGE بای‌پلات برای تجزیه داده‌های دی‌آلل که بر اساس تجزیه به مقادیر منفرد[1] به صورت زیر استفاده شد: در GGE biplot، میانگین و پایداری ژنوتیپ‌ها به GCA و SCA والدین اشاره می کند. مقادیر میانگین برای هیبریدها و جمعیت‌های والدی بین محیط‌ها (دو مکان و دو سال آزمایش) برای تشکیل ماتریس داده‌های دی‌آلل 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 داده های تنظیم شده مرتبط است. مدل برای تجزیه داده ها عبارت است از:

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

بطوریکه Y_{ij} مقادیر ژنوتیپی 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 ژنوتیپ محک j هستند. ε_{ij} باقیمانده مدل برای انتری i و محک j است. در تلاقی‌های دی آلل، یک والد هم انتری و هم محک است. روش آماری توسط یان و هانت (۴۲) و یان و کانگ (۴۳) تقریب زده می‌شود:

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

بطوریکه، aij زاویه بین وکتور دو والد i و j و rij ضریب همبستگی بین دو والد است. دو والد بطور مثبتی به هم همبسته هستند اگر زاویه بین وکتور دو والد آنها کمتر از ۹۰° باشد و بطور منفی دو والد به هم همبسته هستند اگر زاویه بیش از ۹۰° باشد. و دو والد مستقل هستند اگر زاویه بین آنها ۹۰° باشد. صفر به این معنی است که همبستگی ۱+ است و ۱۸۰ به این معنی است که همبستگی ۱- است. ورودی (انتری) با وکتور بلندتر قابل تشخیص‌تر از ورودی‌هایی با وکتور کوتاه‌تر هستند و آنهایی که در مرکز بای‌پلات قرار گرفتند قابل تشخیص نیستند.

از نمودار بای‌پلات برای تعیین ترکیب‌پذیری عمومی و ترکیب‌پذیری خصوصی، بهترین ژنوتیپ محک و بهترین دورگ‌ها با رسم average tester coordinate (ATC) برای ورودی‌ها (انتری‌ها) استفاده می‌شود. فاصله افقی هر انتری (ژنوتیپ‌هایی با حرف کوچک) از محور عمودی مختصات ژنوتیپ محک متوسط و آن هم در جهت علامت پیکان محور افقی بیانگر مقدار مثبت ترکیب‌پذیری عمومی است. از آنجائیکه اثر ترکیب پذیری عمومی و ترکیب پذیری خصوصی متعامد (اورتوگونال) هستند، فاصله ژنوتیپ‌ها با محور افقی مختصات ژنوتیپ محک متوسط نشانگر ترکیب‌پذیری خصوصی برای ژنوتیپ‌های مختلف است (۴۲،۴۳).

ژنوتیپ محکی به عنوان بهترین ژنوتیپ محک در ترکیب با سایر انتری‌ها شناخته می‌شود که در مرکز نقطه دایره مرکزی باشد، در واقع ژنوتیپ محک ایده‌آل ژنوتیپی است که کمترین فاصله را با محور افقی مختصات ژنوتیپ محک متوسط را داشته و در جهت علامت پیکان این محور باشد (۴۴).

از نمودار چند ضلعی برای تشخیص بهترین دورگ‌های ممکن از تلاقی بین انتری‌ها و ژنوتیپ‌های محک استفاده شد. به این منظور ژنوتیپ‌هایی (انتری‌هایی) که دورترین فاصله را از مبدا بای‌پلات دارند توسط خطوط راست بهم متصل و یک چند ضلعی که سایر ژنوتیپ‌ها در درون آن قرار می‌گیرند را به وجود می‌آورند. خطوط عمودی در اطراف چند ضلعی ترسیم می‌شود که از مبدا بای‌پلات شروع شده و بای‌پلات را به چند ناحیه تقسیم می‌نماید (۴۴).

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب تلاقی‌های دی‌آلل بر اساس روش ۲ گریفینگ در جدول ۱ مشاهده می‌شود که اختلافات معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) بین ژنوتیپ‌ها و ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی برای صفات مورد بررسی مشاهده شد. بنابراین امکان ارزیابی ژنتیکی نتایج حاصل از تلاقی دی‌آلل یک طرفه 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 × محیط و

ترکیب‌پذیری خصوصی × 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 توسط جولیر و همکاران (۱۴) و ملیچ و همکاران (۱۹) مشاهده و گزارش شده است.

نمودارهای دو بعدی داده‌های دی‌آلل 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 ۴/ ۶۹ 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 مبدا 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 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> قهاوند> بمی> سکوئل> رهنانی> مهاجران و کوزره بود. فاصله هر لاین از بردار میانگین محک‌ها، ترکیب‌پذیری خصوصی آن را برآورد می‌کند. در واقع، این شاخص تمایل هر لاین اینبرد جزئی یونجه را برای تولید هیبریدهای جزئی بهتر با لاین‌های اینبرد جزئی دیگر نشان می‌دهد. به این ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی سکوئل، سیلوانا، قهاوند و نیک‌شهری به ترتیب دارای ترکیب‌پذیری خصوصی بالاتری نسبت به بقیه هستند. در این اشکال محور میانگین تسترها، 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، قهاوند، رهنانی 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، اولا باید بتواند ژنوتیپ‌ها را بهتر از هم تشخیص دهد، ثانیا باید دارای عملکرد و نمود خوبی باشد. بر این اساس ژنوتیپی به عنوان بهترین شناخته می‌شود که نزدیک به میانگین تسترها و متمایل به انتهای مثبت محور میانگین تسترها قرار گرفته باشد.

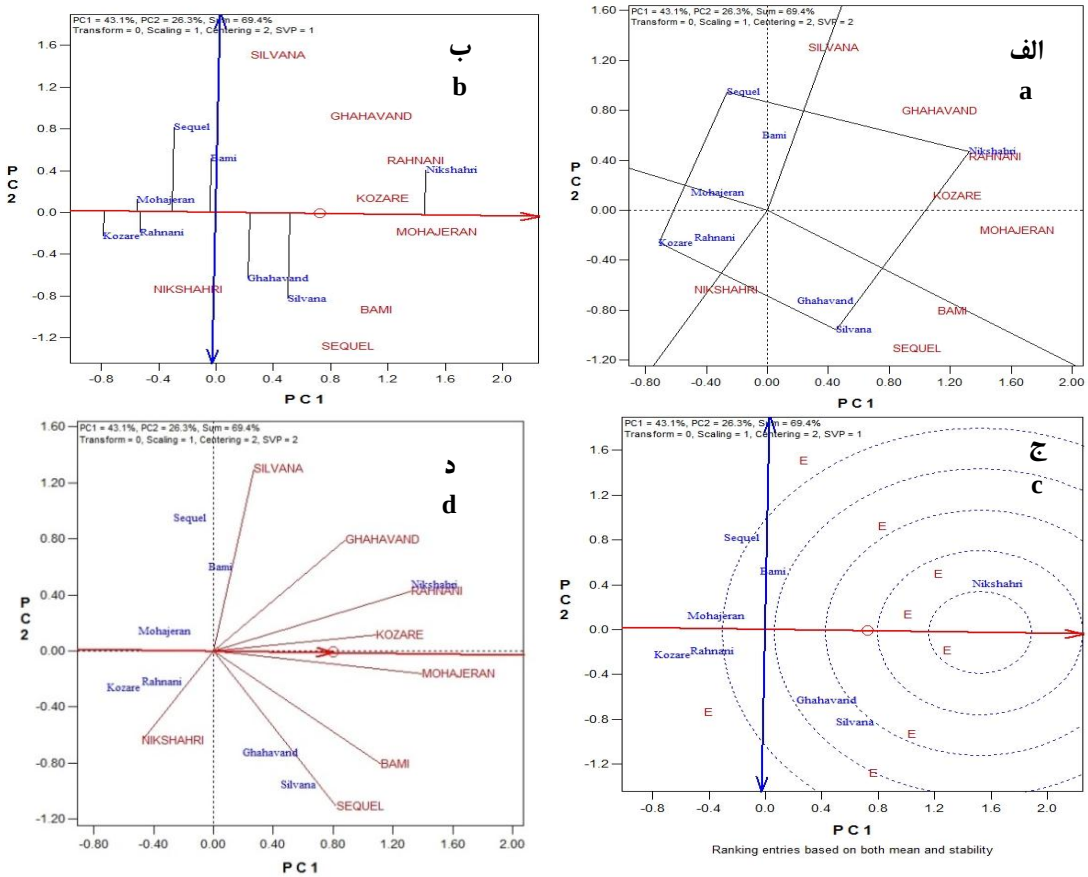
جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب با روش گریفینگ برای صفات عملکرد ماده خشک علوفه، ارتفاع گیاه و سرعت رشد مجدد در دو مکان و دو سال (چهار محیط)

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 (سانتی متر)
تکرار	۲	۳۰۶/۷۸^{ns}	۱۹/۳۲^{ns}	۶/۲۵^{ns}
محیط	۳	۷۶۱۱۹۷/۱۱**	۱۶۱۶/۱۸**	۱۷۰۹/۴۴
تکرار × محیط	۶	۲۰۳/۱۷	۴۴/۴۴	۹/۱۵**
ورودی	۳۵	۴۸۲۹/۸۵**	۲۴۲/۷۰**	۹۵/۵۵**
ترکیب پذیری عمومی	۷	۷۲۰۷/۳۳**	۲۹۷/۳۲**	۱۱۲/۸۲**
ترکیب پذیری خصوصی	۲۸	۴۲۳۵/۳۶**	۲۲۷/۷۹**	۹۱/۲۴**
ورودی × محیط	۱۰۵	۱۰۶۷/۲۲**	۶۴/۲۵**	۳۰/۸۲**
ترکیب پذیری عمومی × محیط	۲۱	۱۸۶۵/۳۵**	۹۰/۵۳**	۳۸/۵۷**
ترکیب پذیری خصوصی × محیط	۸۴	۸۶۷/۶۶**	۵۶/۴۴**	۲۸/۸۷**
اشتباه	۲۸۰	۱۴۴/۴۴	۱۳/۹۸	۶/۹۶
ضریب تغییرات (درصد)		۷/۸۱	۴/۷۷	۶/۱۰

^{ns} و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

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 مبدا مختصات دارند، به‌طوریکه سایر لاین‌ها داخل این چند وجهی قرار گیرند. از مبدا 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 ژنوتیپ‌های 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 بخش‌ها هستند. لاین‌هایی که نزدیک مبدا قرار می‌گیرند، ترکیب‌پذیری ضعیفی با تمام محک‌ها دارند و به عوض شدن محک واکنش زیادی نشان نمی‌دهند. از آنجائیکه لاین اینبرد جزئی نیک‌شهری و تستر قهاوند، سیلوانا، رهنانی، مهاجران و کوزره در یک بخش قرار گرفته‌اند بنابراین لاین نیک‌شهری با این اینبردها از ترکیب‌پذیری بسیار زیادی برخوردار است. همچنین به‌دلیل اینکه بر عکس آن نیز وجود دارد و اینبرد جزئی قهاوند همچنین سیلوانا نیز با تستر نیک‌شهری در یک بخش دیگر با هم بودند. این اینبردها از ترکیب‌پذیری بسیار زیادی برخوردار هستند و تلاقی آنها بسیار هتروتیک است. لاین سیلوانا و قهاوند 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).



شکل ۱– نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آلل 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.

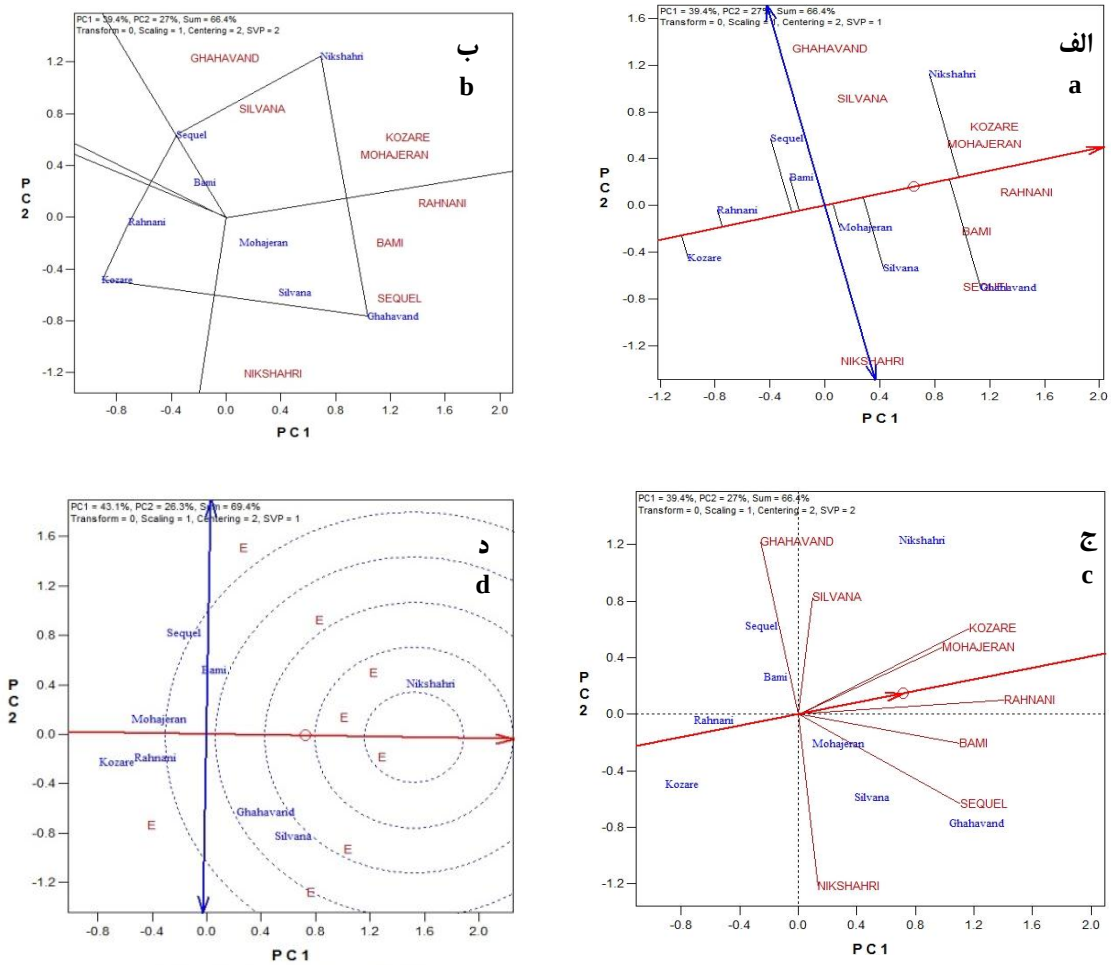
(شکل ۱–ج) برای گروه‌بندی ارقام و تعیین شباهت و عدم‌شباهت ژنوتیپ‌ها استفاده شد. براساس نواحی چهارگانه ارقام به‌سه گروه تقسیم‌بندی شدند. گروه اول شامل اینبردهای سیلوانا، قهاوند، رهنانی، کوزره، گروه دوم شامل اینبردهای مهاجران، بمی و سکوئل است و اینبرد نیک‌شهری نیز در یک گروه جدا قرار گرفت. زاویه بین محور لاین‌ها نیز همبستگی یا 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، قهاوند، بمی، سکوئل، مهاجران، رهنانی و کوزره است.

نمودار دوبعدی داده‌های دی آلل ارتفاع گیاه برای اینبرد لاین‌های اینبرد جزئی یونجه مورد بررسی بر اساس میانگین داده‌های دو سال و دو مکان در شکل ۲ ارائه شده است. نمودار GGE2 بای‌پلات ۶۶/۴٪ از واریانس داده‌ها را توضیح می‌دهد (بر اساس شکل ۲– الف–د). بر اساس شکل ۲ الف، ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی ارتفاع بوته گیاهی به‌ترتیب به صورت نیک‌شهری ≈ قهاوند > سیلوانا > مهاجران > بمی > سکوئل > رهنانی > کوزره بود. همچنین لاین‌های اینبرد جزئی قهاوند، نیک‌شهری، سیلوانا، سکوئل دارای ترکیب‌پذیری خصوصی بالاتری نسبت به بقیه ارقام بودند. همچنین گروه‌های هتروتیک مشخص شده در این شکل به صورت قهاوند، مهاجران، سیلوانا و کوزره و گروه دوم شامل نیک شهری، بمی، سکوئل و رهنانی بود. با توجه به شکل ۲ الف، ژنوتیپ قهاوند 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 قهاوند و سیلوانا، کوزره و مهاجران در یک بخش قرار گرفته‌اند، اما لاین قهاوند 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 مبدا قرار دارد و ترکیب‌پذیری ضعیفی با تمام تسترها دارد. اینبرد نیک‌شهری اگرچه با تستر کوزره و مهاجران در یک بخش قرار داشتند ولی برعکس آن وجود نداشت، ولی این امر نشان می‌دهد که آنها نیز ترکیب‌پذیری خوبی دارند. لاین قهاوند 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 برعکس آن با محک نیک‌شهری وجود دارد، بنابراین ترکیب این دو بسیار هتروتیک است. اینبرد لاین‌های 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– ب). 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 اینبرد قهاوند نیز در یک گروه جدا قرار گرفت. زاویه بین محور لاین‌ها نیز همبستگی یا شباهت لاین‌ها را نشان می‌دهد، بطوریکه این زاویه هر چقدر کوچک‌تر باشد، همبستگی ارقام بیشتر است. بر اساس این زاویه نیز گروه‌بندی لاین‌های جزئی امکان‌پذیر است. همچنین بر اساس طول محور هر محک با فاصله محک‌ها از مبدا، محک‌های قهاوند و نیک شهری نسبت به سایر محک‌ها بیشتر قابل تشخیص بودند. با توجه به (شکل ۲–د) ترتیب تسترها به صورت مناسب‌ترین محک به صورت نیک‌شهری، سیلوانا، قهاوند، بمی، سکوئل، مهاجران، رهنانی و کوزره بود.

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 > قهاوند ≈ مهاجران > بمی > سکوئل > کوزره> رهنانی بود. بهترین لاین‌های اینبرد از نظر ترکیب‌پذیری خصوصی نیز اکوتیپ‌های قهاوند، مهاجران، نیک‌شهری، سیلوانا، سکوئل، رهنانی، کوزره و بمی به‌ترتیب دارای ترکیب‌پذیری بالاتری نسبت به بقیه اینبردها بودند (شکل ۳–الف). از نظر صفت سرعت رشد مجدد، با توجه به‌محور میانگین محک‌ها دو گروه هتروتیک وجود دارد. گروه اول سیلوانا، قهاوند و رهنانی، گروه دوم شامل بمی، کوزره، سکوئل، مهاجران و نیک‌شهری است. با توجه به شکل ۳ الف تستر سیلوانا به‌عنوان بهترین تستر شناخته شد. بر اساس نمایش چند وجهی نمودار دو بعدی (شکل ۳–ب)، اینبرد لاین نسبی نیک‌شهری و محک‌های قهاوند، بمی، کوزره و سکوئل در یک بخش قرار گرفتند. برای اینبرد مهاجران و محک قهاوند، رهنانی، بمی، کوزره و سکوئل در یک بخش قرار گرفتند، این موضوع ترکیب‌پذیری خوب آنها را نشان می‌دهد. بر عکس آن یعنی لاین نسبی قهاوند 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 قهاوند 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، قهاوند، 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

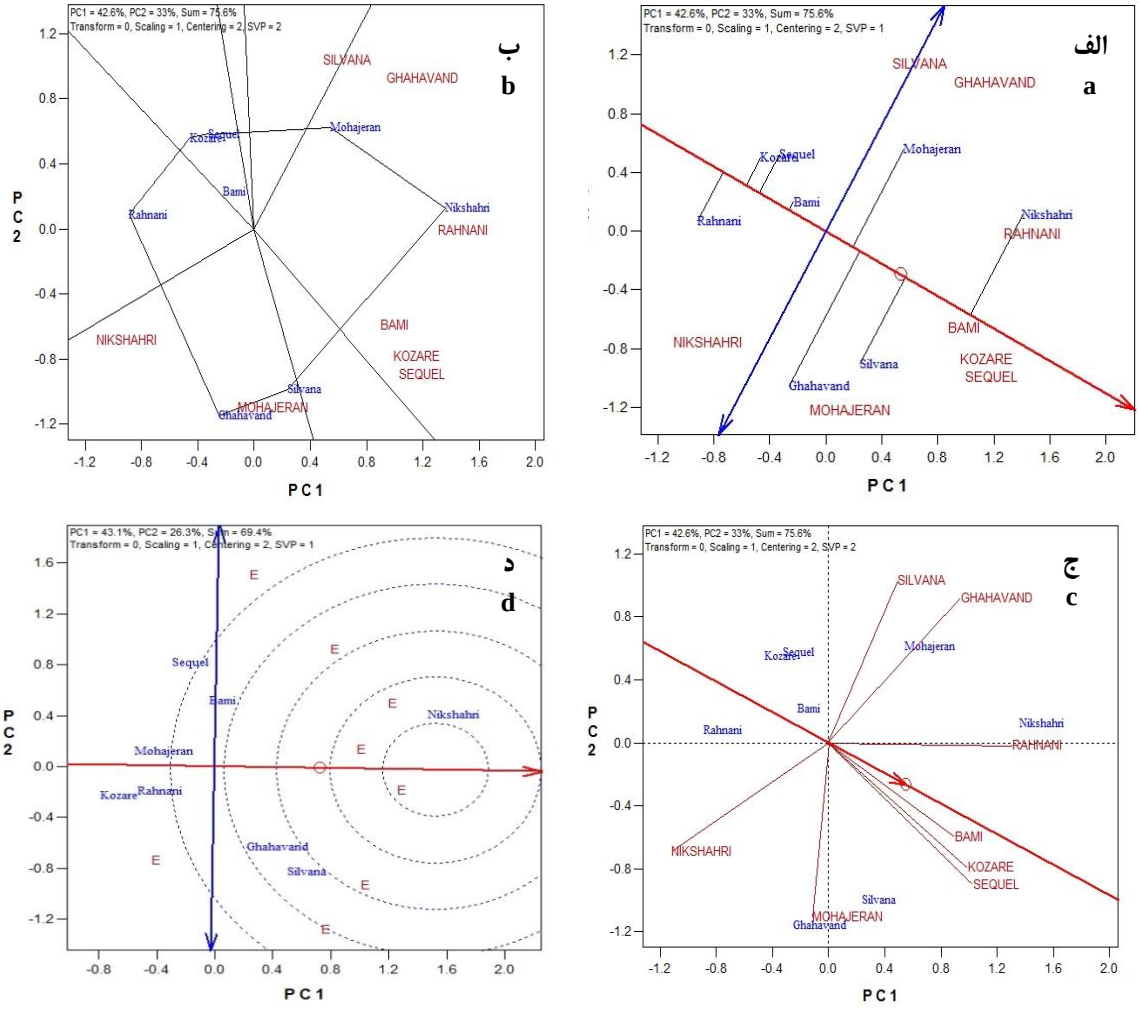
است و بنابراین شباهت بیشتری دارند (شکل ۳–ج). از طرف دیگر با توجه به (شکل ۳–د) ترتیب اینبردهای نسبی یونجه به صورت مناسب‌ترین محک به صورت نیک‌شهری، سیلوانه، قهاوند، مهاجران، بمی، سکوئل، کوزره و رهنانی بود.

نتایج تجزیه دی‌آلل نشان داد که صفات زراعی بررسی شده توسط عمل افزایشی ژن‌ها، از طریق افزایش تجمعی فروانی آلل‌های مطلوب کنترل می‌شوند که در نتیجه اثرات GCA معنی‌دار بود. همچنین اثرات غیرافزایشی ژن‌ها از طریق برهم‌کنش ژن‌های مکمل ناشی از اثرات معنی‌دار SCA نیز در کنترل ژنتیکی صفات نقش دارد. توجه به این نکته ضروری است که در گیاهان اتوتتراپلوئید، GCA شامل هر دو اثرات افزایشی و غالبیت 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 هیبریدهای برتری را از نظر عملکرد ماده خشک علوفه، ارتفاع، سرعت رشد مجدد ارائه دادند. اگرچه تلاقی مثل قهاوند × مهاجران با منشأ یکسان همدانی عملکرد علوفه، ارتفاع و سرعت رشد مجدد با SCA، هتروزیس میانگین والدین و والد برتر مثبت معنی‌دار داشتند. اگرچه تعداد بیشتری از تلاقی‌ها با عملکرد بالاتر، از تلاقی والدین با منشأ متفاوت از نظر آب وهوا و درجه خواب متفاوت تولید شده‌اند. وجود اثرات هتروتیک معنی‌دار برای صفات بررسی شده، نشان داد که امکان استفاده از خودباروری و تلاقی بین اینبردهای جزئی منتخب (S_2) وجود دارد. برای به‌دست آوردن حداکثر هتروزیس، با تلاقی بهترین سینگل‌کراس‌ها و تولید هیبریدهای دوبل می‌توان به حداکثر هتروزیس، ویگور بیشتر و بهبود عملکرد کمی علوفه به‌همراه کیفیت مورد انتظار علوفه با تولید هیبریدهای آزاد رسید.



شکل ۲– نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آلل 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 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. 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 داده‌های دی‌آلل برای صفت سرعت رشد مجدد 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 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 علوفه‌ای برای حمایت و در اختیار قرار دادن امکانات و از بخش تحقیقات غلات به دلیل در اختیار قرار دادن گلخانه برای انجام تلاقی‌های مورد نیاز این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. 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.
2. Bertoria, L., C. Lopez and R. Burak. 2006. Biplot analysis of forage combining ability in Maize landraces. Crop Science, 46(3): 1346-1353.
3. 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.
4. 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.
5. Brummer, E.C. 1999. Capturing heterosis in forage crop cultivar development. *Crop Science*, 39: 943–954.
6. 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
7. 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.
8. 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 Documenta- tion, Wageningen, the Netherlands.
9. Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. Australian Journal of Biological Sciences, 9: 463-493.
10. Hayman, B.I. 1954. The theory and analysis of diallel crosses. Genetics, 39: 789-809.
11. 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.
12. Hill, R.R. Jr. 1983. Heterosis in population crosses of alfalfa. Crop Science, 23: 4850.
13. 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.
14. Julier, B., C. Huyghe and C. Ecalle. 2000. Within and among–cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology and yield. Crop Science, 40: 365-369.
15. Katic, S., S. Vasiljevic, Z. Lugic, 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,
16. 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).
17. 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.
18. 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.
19. Milić, D., S. Katić, A. Miklić, D. Karagić, J. Gvozdanović–Varga, S. Petrovicć and J. Boć anski, 2011. Genetic control of agronomic traits in alfalfa (*M. sativa ssp. sativa* L.). Euphytica, 182: 25-33.
20. 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.
21. 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).
22. Monirifar, H. and R. Mazlomi. 2014. Repeated screening for selection of salt tolerant alfalfa ecotypes. Journal of Crop Breeding, 6: 89-100 (In Persian).
23. Monirifar, H. 2016. Development and evaluation of a synthetic alfalfa variety for tolerance to salinity. Journal of Crop Breeding, 8: 176-182 (In Persian).
24. 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.
25. 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
26. Riday, H. and E.C. Brummer. 2002. Forage yield heterosis in alfalfa. Crop Science, 42: 716-723.
27. Riday, H., E.C. Brummer, T.A. Campbell, D. Luth and P.M. Cazcarro. 2003. Comparations of genetic and morphological distance with heterosis between *Medicago sativa* subsp. *sativa* and subsp. *falcata*. Euphytica, 131: 37-45.
28. 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.
29. 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.
30. 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: Charecterization 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. Čupić, V. Španić, 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-enviroment 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 Ghotbi[1], Farhad Azizi[2], Mohammad Javad Zamani[2] and Afshin Rozbehani[3]

1-Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran, (Corresponding author: v.ghotbi@areoo.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 Rahnani as parents of crosses for all traits. SCA was maximum for two specific parents, Nikshahri × Ghahavand and Nikshahri × 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.

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