دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

مطالعه تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های یونجه (*Medicago sativa* L.) با استفاده از تجزیه‌های آماری چند متغیره

زهرا خدارحم‌پور[۱] و محمد معتمدی[۲]

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران (نویسنده مسوول: zahra_khodarahm@yahoo.com)
۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۲۳

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های یونجه توسط تجزیه و تحلیل‌های چند متغیره با استفاده از صفات زراعی و مورفولوژیک انجام گردید. بدین منظور ۲۰ ژنوتیپ یونجه به همراه شاهد محلی بغدادی بعنوان فاکتور اول و برداشت در سه چین بعنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. طرح بصورت کرت‌های خرد شده در زمان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۲ در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر اجرا شد. نتایج همبستگی ساده بیان‌گر آن بود که بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک (۰/۹۵) وجود داشت. دو صفت عملکرد علوفه تر و تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی در برابر صفت عملکرد علوفه خشک در نتیجه‌ی رگرسیون گام به گام وارد معادله شدند. تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که ٦٣ درصد از تغییرات کل، توسط دو مولفه‌ی اول توجیه شدند. نتایج بای پلات و تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در سه گروه قرار داد. در گروه اول لاین‌های KFA1، KFA2، KFA3، KFA5، KFA6، KFA7، KFA11، KFA13، KFA17 و رقم بغدادی قرار گرفتند که از نظر عملکرد علوفه در حد مطلوبی بودند، در گروه دوم لاین‌های KFA8، KFA9، KFA10، KFA12، KFA15 و KFA16 قرار گرفتند که از نظر عملکرد و کیفیت علوفه در حد پایینی بودند. گروه سوم شامل ارقام بمی گرمسیری، یزدی گرمسیری و نیکشهری گرمسیری بودند، که از نظر کیفیت علوفه در حد مطلوبی می‌باشند. نتایج تابع تشخیص نشان داد که ۱۰۰ درصد ژنوتیپ‌ها به گروه خود تعلق دارند.**

واژه‌های کلیدی: تجزیه به مولفه‌های اصلی، رگرسیون، کلاستر، همبستگی، یونجه

مقدمه

یونجه (*Medicago sativa* L.) یکی از مهمترین گیاهان علوفه‌ای به شمار می‌رود که از قفقاز، شمال غربی ایران، ارتفاعات ترکمنستان و شمال شرقی ترکیه منشاء گرفته است (۱۵). علیرغم اهمیت زراعی این گیاه، پیشرفت‌های حاصل از برنامه‌های اصلاحی در این گیاه بخاطر توارث تترازومی، پسروی خویش آمیزی شدید و پیچیدگی ساختار ژنتیکی آن نسبت به گیاهان دیگر چندان چشمگیر نبوده است.

از طرف دیگر به خاطر میزان زیاد دگرگشنی، گرده‌افشانی باز و اینترگرسیون بین گونه‌های *M. falcate* با *M. sativa* یونجه گیاه به شدت هتروزیگوتی است که تنوع ژنتیکی زیادی در بین ارقام آن دیده می‌شود. وجود چنین اختلاف ژنتیکی گسترده در بین افراد جمعیت یونجه، مطالعات ژنتیک جمعیت در این محصول آن را پیچیده‌تر نموده است (۱۶،۱۵).

استفاده از منابع ژنتیکی در اصلاح گیاهان نیازمند مطالعه دقیق تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی است. در منطقه‌ای که به طور مداوم از چند واریته‌ی پر محصول و محدود استفاده شود، به مرور زمان تنوع ژنتیکی از بین رفته و جای خود را به یکنواختی می‌دهد. آگاهی از تنوع ژنتیکی گونه‌ها اهمیت زیادی دارد، زیرا پایه‌ی تحقیقات در اصلاح نباتات می‌باشد (۱۸).

معمولاً تنوع گیاهی زراعی همبستگی مثبتی با پراکندگی جغرافیایی آن‌ها دارد. گیاهان زراعی طی سال‌ها زیستن در شرایط محیطی متفاوت حاوی ژن های متنوعی شده‌اند (۶). لذا با انتخاب و استفاده‌ی صحیح از تنوع ژنتیکی می‌توان به اهداف از قبل پیش‌بینی شده رسید. متخصصان اصلاح نباتات برای تعیین دوری یا نزدیکی ژنوتیپ‌ها، خویشاوندی یا عدم خویشاوندی آنها و همچنین تعیین وجود یا عدم عدم تشابه ژنتیکی ژنوتیپ‌ها در کلکسیون‌های مختلف گیاهی از تجزیه‌ی خوشه‌ای استفاده می‌کنند. در بین روش‌های تجزیه چند متغیره، تجزیه به مولفه‌های اصلی، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی مهم‌ترین روش‌ها هستند (۱۱).

موسیال و همکاران (۱۳) در بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون ۱۹ رقم و لاین یونجه بر اساس تجزیه خوشه‌ای این ژنوتیپ‌ها را به گروه‌های مختلفی تقسیم‌بندی کرده و نشان دادند که تنوع ژنتیکی بین ارقام و لاین‌های مختلف یونجه بیشتر از تنوع درون ارقام بود. لی سینگر و همکاران (۹) از تجزیه و تحلیل خوشه‌ای برای گروه‌بندی توده‌های یونجه به روش حداقل واریانس استفاده نمودند. پور فرهاد و همکاران (۱۴) با بررسی ۴۹ اکوتیپ یونجه گزارش کردند که تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از اختلاف زیاد بین اکوتیپ‌ها برای اکثر صفات بود. در تجزیه‌ی کلاستر به روش WARD، ۴۹ اکوتیپ یونجه در ۵ گروه متفاوت قرار گرفتند. تجزیه به مؤلفه های اصلی نشان داد که حدود ۷۴/۶۷ درصد از تغییرات کل، توسط دو مؤلفه‌ی اصلی اول توجیه می‌شود.

متأسفانه علیرغم اهمیت اقتصادی زیاد گیاهان علوفه‌ای و وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه برای اکثر صفات مهم زراعی در

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-06-08]

منابع ژنتیکی گیاهان علوفه‌ای بانک ژن گیاهی ملی ایران، بهره‌برداری کافی از این ژرم‌پلاسم ارزشمند صورت نگرفته است و اصلاح گیاهان علوفه‌ای کشور هنوز در مراحل ابتدایی قرار دارد. این تحقیق به منظور ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی موجود در ژنوتیپ‌های یونجه از نظر خصوصیات مورفولوژیک و کمی انجام شد. یافتن نحوه ارتباط صفات مختلف با یکدیگر و قرابت ژنتیکی آنها از طریق تجزیه خوشه‌ای از اهداف دیگر این تحقیق می‌باشد تا به‌نژادگران از نتایج آنها برای انجام تلاقی‌های هدفمند در مراحل بعدی به منظور تولید ارقام برتر استفاده کنند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۲۰ ژنوتیپ یونجه (KFA_1، KFA_3، KFA_8، KFA_{10}، KFA_{11}، KFA_{12}، KFA_{13}، KFA_{14} و KFA_{15} با منشاء قره یونجه، KFA_2، KFA_4، KFA_5، KFA_6، KFA_{16} و KFA_{17} با منشاء همدانی، KFA_7 با منشاء رهنانی، KFA_9 با منشاء چالشتر شهرکرد، بمی گرمسیری، یزدی گرمسیری و نیکشهری گرمسیری) به همراه شاهد محلی بغدادی بعنوان فاکتور اول و برداشت در سه چین بعنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. طرح بصورت کرت‌های خرد شده در زمان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۲ در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر اجرا شد.

کاشت در تاریخ ۱ آذر ماه ۱۳۹۲ بصورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار به نحوی که هر واحد آزمایشی شامل ۵ ردیف کاشت به طول ۳ متر و به فواصل خطوط ۵۰ سانتی متر بود، انجام شد. میزان بذر مورد کشت نیز براساس ۳۵۰ بذر در متر مربع تنظیم گردید. کودهای مورد نیاز بر اساس توصیه فنی شامل ۲۰۰ کیلوگرم اوره و نیز ۱۰۰، ۵۰ و ۴۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم و سولفات پتاسیم و روی مصرف شد. علف‌های هرز مزرعه به صورت وجین دستی کنترل شدند. آبیاری در صورت نیاز و معمولاً هر ۷ روز یکبار صورت گرفت. صفات ارتفاع بوته، تعداد گره در ساقه اصلی، فاصله میانگره در ساقه اصلی (بین گره سوم و چهارم) و تعداد ساقه اصلی در بوته در تاریخ ۵۰ درصد گلدهی در هر چین با برداشت ۱۰ بوته بطور تصادفی از ۳ خط وسط هر کرت اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان عملکرد علوفه‌ی تر در مرحله‌ی ۵۰ درصد گل دهی در هر چین، کل هر کرت در مساحت مشخص برداشت و پس از توزین وزن آنها عملکرد علوفه‌ی تر بر حسب تن در هکتار محاسبه گردید. سپس یک نمونه از هر کرت به وزن تقریبی ۵۰۰ گرم تهیه و در مجاورت هوای آزاد در مزرعه خشک شده و وزن خشک آنها نیز اندازه‌گیری شد. از نسبت وزن خشک برگ به ساقه کیفیت علوفه ارزیابی شد. برای اندازه گیری تعداد روز تا ۵۰ درصد گل‌دهی، تعداد روز از تاریخ کاشت در هر سه چین در نظر گرفته شد.

قبل از تجزیه‌های آماری مورد نظر داده‌ها، نرمال بودن توزیع انحرافات برای کلیه‌ی صفات مورد آزمون قرار گرفت. تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه 9.1.3، همبستگی، رگرسیون گام به گام، تجزیه به مولفه‌های اصلی، بای‌پلات، تجزیه کلاستر و تابع تشخیص با نرم افزار Minitab نسخه ۱۶ انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر بلوک و اثر متقابل ژنوتیپ×برداشت برای کلیه صفات غیرمعنی‌دار بود. بین ژنوتیپ‌ها برای تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، ارتفاع بوته، عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک اختلاف معنی‌دار وجود داشت و برای سایر صفات اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید. این نتیجه نشانگر این موضوع است که متوسط تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، ارتفاع بوته، عملکرد علوفه تر و خشک ژنوتیپ‌های مورد بررسی در کل برداشت‌ها اختلاف معنی‌دار با هم دارند. بین برداشت‌ها برای کلیه صفات اختلاف معنی‌دار درسطح احتمال ۱ درصد وجود داشت (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس میانگین مربعات ژنوتیپ‌های یونجه در برداشت‌های مختلف

Table 1. Analysis of variance of mean of squares of alfalfa genotypes in different harvests

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی	ارتفاع بوته	تعداد گره در ساقه اصلی	فاصله میان‌گره	تعداد ساقه اصلی در بوته	عملکرد علوفه تر	عملکرد علوفه خشک	نسبت برگ خشک به ساقه
بلوک	۲	۱۳۹۵/۸۱۵^{ns}	۴۹/۳۷۰^{ns}	۱۲/۲۹۸^{ns}	۰/۹۵۹^{ns}	۱۱/۰۲۱^{ns}	۲/۷۴۰^{ns}	۵۱/۴۹^{ns}	۰/۸۳۳^{ns}
ژنوتیپ	۲۰	۶۷/۰۱۸**	۵۷/۹۴۹**	۲/۶۵۳^{ns}	۱/۱۲۴^{ns}	۱/۴۵۱^{ns}	۱۰/۵۴۴**	۴/۱۰**	۰/۱۳۰^{ns}
خطای ژنوتیپ	۴۰	۶۲/۴۳۲	۲۵/۵۶۷	۱/۸۳۳	۰/۹۷۵	۲/۵۱۰	۸/۸۱۱	۰/۴۵۶	۰/۰۸۰
برداشت	۲	۹۹۴۷۳/۲۴۳**	۴۲۶۶/۲۱۸**	۱۳۲/۴۳۹**	۳۲/۷۹۹**	۱۲۷/۱۰۲**	۱۰/۰۷**	۸/۷**	۳/۳۲۲**
ژنوتیپ×برداشت	۴۰	۲۳/۵۹۳^{ns}	۲۶/۱۸۲^{ns}	۲/۸۷۹^{ns}	۰/۹۷۳^{ns}	۲/۶۵۸^{ns}	۲/۷۰۰^{ns}	۱۵/۷^{ns}	۰/۰۷۴^{ns}
اشتباه (باقی مانده)	۸۴	۴۶/۴۱۸	۲۶/۵۲۲	۲/۹۶۸	۰/۶۸۷	۲/۷۳۶	۲۹/۷۹	۵/۱۳	۰/۱۱۶
بلوک×برداشت	۴	۵۲۸/۴۹۷	۹۳/۵۷۹	۱۸/۹۴۴	۰/۶۷۱	۹/۲۹۴	۱۳۰/۹۶	۲۰/۲	۰/۶۹۹
بلوک×ژنوتیپ×برداشت	۸۰	۲۲/۳۱۴	۲۳/۱۶۹	۲/۱۶۹	۰/۶۸۸	۲/۴۰۸	۵۶/۲۴	۹/۱۴	۰/۰۸۷

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

آماره‌های توصیفی برای ۸ صفت مطالعه شده در جدول ۲ آورده شده است. بیشترین ضریب تغییرات فنوتیپی به ترتیب مربوط به صفات تعداد ساقه اصلی در بوته، عملکرد علوفه تر، عملکرد علوفه خشک، نسبت وزن برگ خشک به ساقه، فاصله میانگره، ارتفاع بوته، تعداد گره در ساقه اصلی و تاریخ ۵۰٪ گلدهی به ترتیب به مقدار ۳۰، ۳۰، ۲۶، ۲۲، ۲۲، ۱۰، ۹ و ۵ درصد بود. بخش عمده‌ای از تنوع فنوتیپی می‌تواند ناشی از اثر محیط بر روی صفات و به خصوص بر روی صفات پلی ژنیک باشد. بنابراین کوچک بودن ضرایب تنوع فنوتیپی برای صفات ارتفاع بوته، تعداد گره در ساقه اصلی و تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی حاکی از آن است که اثرات ژنتیکی برای این صفات بیشتر از اثرات محیطی است.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-06-08]

ضرایب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده روی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است. عملکرد علوفه تر با تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی (**۰/۶۲-) و همچنین عملکرد علوفه خشک نیز با تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی (*۰/۴۹-) همبستگی منفی و معنی‌دار نشان دادند. هر دو عملکرد با ارتفاع بوته (**۰/۷۳) همبستگی مثبت و معنی‌دار داشتند. باصفا و طاهریان (۱) نیز در آزمایش خود همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد علوفه و ارتفاع بوته گزارش کردند. بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد علوفه تر و خشک مشاهده گردید (**۰/۹۵)، که البته امری بدیهی می‌باشد. سایر صفات با یکدیگر همبستگی غیرمعنی‌دار داشتند (جدول ۳).

جدول ۲- آماره‌های توصیفی صفات مورد بررسی

Table 2. Descriptive statistics of studied traits

صفات مورد بررسی	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار	درصد ضریب تغییرات فنوتیپی
تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی	۱۳۹/۷	۱۴۷/۶	۱۴۳/۲	۲/۷	۵
ارتفاع بوته	۴۱/۹	۵۲/۵	۴۷/۱	۲/۵	۱۰
تعداد گره در ساقه اصلی	۱۳/۶	۱۵/۹	۱۴/۹	۰/۵۴	۹
فاصله میانگره	۳/۷	۵/۰	۴/۴	۰/۳۵	۲۲
تعداد ساقه اصلی در بوته	۴/۳	۵/۹	۵/۰	۰/۴	۳۰
عملکرد علوفه تر	۷/۷	۱۲/۵	۹/۹	۱/۴	۳۰
عملکرد علوفه خشک	۱/۹	۲/۷	۲/۴	۰/۲۷	۲۶
نسبت وزن برگ خشک به ساقه	۱/۱	۱/۶	۱/۳	۰/۱۲	۲۲

جدول ۳- ضرایب همبستگی ساده صفات مورد مطالعه ژنوتیپ‌های یونجه در برداشت‌های مختلف

Table 3. Simple correlation coefficients of studied traits of alfalfa genotypes in different harvests

صفات مورد بررسی	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱- تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی	۱						
۲- ارتفاع بوته	-۰/۳۵ns	۱					
۳- تعداد گره در ساقه اصلی	۰/۲۸ns	۰/۲۴ns	۱				
۴- فاصله میانگره	-۰/۲۴ns	۰/۱۱ns	-۰/۳۵ns	۱			
۵- تعداد ساقه اصلی در بوته	۰/۲۳ns	-۰/۱۳ns	۰/۱۰ns	-۰/۰۶ns	۱		
۶- عملکرد علوفه تر	-۰/۶۲**	۰/۷۳**	۰/۱۷ns	۰/۱۱ns	-۰/۲۲ns	۱	
۷- عملکرد علوفه خشک	-۰/۴۹*	۰/۷۳**	۰/۲۵ns	۰/۱۵ns	-۰/۲۶ns	۰/۹۵**	۱
۸- نسبت وزن برگ خشک به ساقه	-۰/۰۱ns	-۰/۲۹ns	-۰/۴۳ns	۰/۳۱ns	۰/۰۲ns	-۰/۰۸ns	-۰/۱۶ns

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

با استفاده از رگرسیون چند متغیره به روش گام به گام عملکرد علوفه خشک به عنوان متغیر تابع و سایر صفات بعنوان متغیر مستقل مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۴). از بین ۸ متغیر بررسی شده تنها ۲ متغیر وارد معادله شدند به صورتی که در مرحله اول عملکرد علوفه تر با ضریب تبیین ۸۹/۵ درصد وارد معادله شد. شایان ذکر است که عملکرد علوفه تر بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار را با عملکرد علوفه خشک نشان داد. در مرحله دوم تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی با ضریب تبیین ۹۰/۹ درصد وارد معادله شد. همچنین تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی همبستگی منفی و معنی‌داری با عملکرد علوفه خشک داشت. با توجه به نتایج حاصل از رگرسیون گام به گام می‌توان انتخاب را بر مبنای عملکرد علوفه تر و تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی مناسب‌تر دانست.

جدول ۴- رگرسیون گام به گام متغیر وابسته (عملکرد علوفه خشک) با سایر متغیرهای مورد بررسی

Table 4. Step wise regression variables (dry forage yield) to other variables

مرحله	صفت وارد شده به مدل	عرض از مبدأ	X_1	X_2	ضریب تبیین (R^2)	مقدار t برای ضریب در معادله نهایی
۱	عملکرد علوفه تر	۰/۵۴	۰/۱۸	ــــ	۸۹/۵	۱۱/۴۹**
۲	تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی	-۱/۸۴	۰/۲۰	۰/۰۲	۹۰/۹	۱/۷ns

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

تجزیه به مولفه‌های اصلی، معمولاً قبل از تجزیه خوشه‌ای انجام می‌شود تا اهمیت نسبی متغیرهایی که در گروه‌بندی خوشه‌ها نقش دارند روشن شود (۴). تجزیه به مولفه‌های اصلی در ۲۱ ژنوتیپ مورد ارزیابی، براساس صفات مورد مطالعه و ماتریس همبستگی صفات نشان داد که ۶۳ درصد از تغییرات کل، توسط دو مولفه‌ی اول توجیه می‌شوند. طبق جدول ۵ مولفه اول که ۳۹ درصد از کل تغییرات را تبیین نمود دارای ضریب بالا برای عملکرد علوفه تر و خشک بود. مولفه‌ی دوم که حدود ۲۴ درصد از کل تغییرات را تبیین نمود دارای ضریب بالای مثبت برای نسبت وزن برگ خشک به ساقه و ضریب بالای منفی برای تعداد گره در ساقه اصلی بود. در نتیجه می‌توان گفت گزینش برمبنای مولفه‌ی اول منجر به گزینش ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا خواهد شد و گزینش براساس مولفه‌ی دوم منجر به گزینش ژنوتیپ‌هایی با کیفیت علوفه بالا خواهد شد.

پور فرهاد و همکاران (۱۴) با بررسی ۴۹ اکوتیپ یونجه گزارش کردند که حدود ۷۴/۶۷ درصد از تغییرات کل، توسط دو مؤلفه‌ی اصلی اول توجیه می‌شود. مؤلفه‌ی اول که حدود ۵۱/۴۲۸ درصد از تغییرات را تبیین نمود، دارای ضریب بالا برای عملکرد علوفه‌ی تر و خشک، ارتفاع بوته، فاصله‌ی میان

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-06-08]

گره و تعداد روز تا ۵۰٪ گل دهی بود. مؤلفه‌ی دوم که حدود ۲۳/۲۳۹ درصد از تغییرات را تبیین نمود، دارای ضریب بالایی برای تعداد گره و نسبت برگ به ساقه بود. در نتیجه می‌توان گفت گزینش براساس مؤلفه‌ی اول منجر به گزینش اکوتیپ‌هایی با عملکرد بالا خواهد شد و گزینش براساس مؤلفه‌ی دوم منجر به گزینش اکوتیپ‌هایی با کیفیت علوفه‌ی بالا خواهد شد.

جدول ۵- نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های یونجه در برداشت‌های مختلف

Table 5. Principal's components analysis of studied traits in alfalfa genotypes in different harvests

صفات	مؤلفه‌ی اول	مؤلفه‌ی دوم
تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی	-۰/۳۷۰	-۰/۳۱۹
ارتفاع بوته	۰/۴۶۸	-۰/۱۲۷
تعداد گره در ساقه اصلی	۰/۱۱۰	-۰/۵۹۹
فاصله میانگره	۰/۱۰۱	۰/۴۹۳
تعداد ساقه اصلی در بوته	-۰/۱۸۶	-۰/۱۵۴
عملکرد علوفه تر	۰/۵۳۷	۰/۰۲۲
عملکرد علوفه خشک	۰/۵۳۱	-۰/۰۳۵
نسبت وزن برگ خشک به ساقه	-۰/۱۳۰	۰/۵۰۵
مقادیر ویژه	۳/۱۵۴۸	۱/۸۸۳۰
واریانس نسبی	۰/۳۹۴	۰/۲۳۵
واریانس تجمعی	۰/۳۹۴	۰/۶۳۰

پور فرهاد و همکاران (۱۴) با بررسی ۴۹ اکوتیپ یونجه گزارش کردند که حدود ۷۴/۶۷ درصد از تغییرات کل، توسط دو مؤلفه‌ی اصلی اول توجیه می‌شود. مؤلفه ی اول که حدود ۵۱/۴۲۸ درصد از تغییرات را تبیین نمود، دارای ضریب بالا برای عملکرد علوفه‌ی تر و خشک، ارتفاع بوته، فاصله‌ی میان گره و تعداد روز تا ۵۰٪ گل دهی بود. مؤلفه‌ی دوم که حدود ۲۳/۲۳۹ درصد از تغییرات را تبیین نمود، دارای ضریب بالایی برای تعداد گره و نسبت برگ به ساقه بود. در نتیجه می‌توان گفت گزینش براساس مؤلفه‌ی اول منجر به گزینش اکوتیپ‌هایی با عملکرد بالا خواهد شد و گزینش براساس مؤلفه‌ی دوم منجر به گزینش اکوتیپ‌هایی با کیفیت علوفه‌ی بالا خواهد شد.

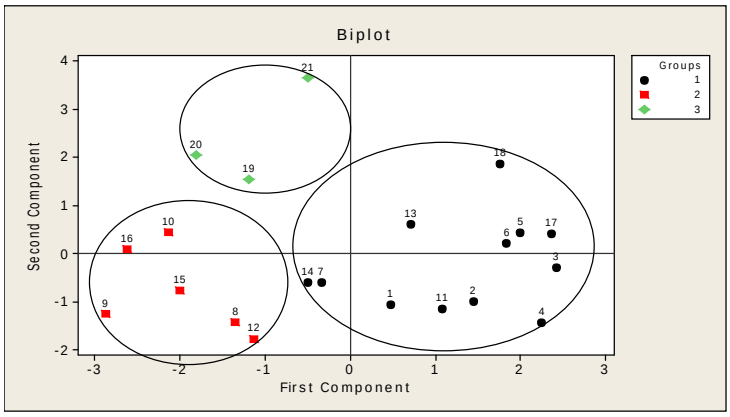
وقتی که دو مولفه اصلی اولیه علت بیشتر واریانس موجود در داده‌ها هستند، تهیه نمودار داده‌ها در مقابل این دو مولفه اصلی روش خوبی برای پژوهش پیرامون تجزیه خوشه‌ای است (۲). بر اساس بای‌پلات ترسیم شده بر مبنای مؤلفه‌های اول و دوم نمودار ۱، ژنوتیپ‌های یونجه مورد بررسی به سه گروه تقسیم شدند. این نمودار نشان داد که لاین‌های KFA_1، KFA_2، KFA_3، KFA_4، KFA_5، KFA_6، KFA_7، KFA_{11}، KFA_{13}، KFA_{14}، KFA_{17} و رقم بغدادی در سمت راست نمودار یعنی در ناحیه‌ایی با عملکرد علوفه تر و خشک بالا نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها قرار گرفتند، همچنین از نظر مولفه دوم برخی از آنها در حد پایین و برخی در حد متوسط و برخی مانند رقم بغدادی در حد بالایی قرار گرفتند. بنابراین با توجه به مطلوب بودن صفات عملکرد متعلق به مولفه اول و صفات کیفی متعلق به مولفه دوم، برخی از ژنوتیپ‌های این گروه مانند رقم بغدادی که رقم شاهد و محلی شهرستان شوشتر می‌باشد هم از نظر عملکرد و هم از نظر کیفیت مطلوب‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها می‌باشند. گروه دوم لاین‌هایی هستند که در ناحیه‌ای با پایین بودن مؤلفه اول و دوم قرار گرفتند که با توجه به این نکته که بالا بودن مولفه اول و دوم یعنی بیشتر بودن عملکرد و کیفیت است؛ پس این لاین‌ها، هم از نظر عملکرد و هم کیفیت مطلوب نیستند. در این گروه لاین‌های KFA_8، KFA_9، KFA_{10}، KFA_{12}، KFA_{15} و KFA_{16} قرار گرفتند. همچنین ارقامی نظیر بمی گرمسیری، یزدی گرمسیری و نیکشهری گرمسیری در گروه سوم و در ناحیه‌ایی با پایین بودن مؤلفه اول و بالا بودن مولفه دوم قرار گرفتند; که نشان‌دهنده کیفیت بالای این ارقام می‌باشد. نمودار بای پلات برای نشان دادن موقعیت ژنوتیپ‌ها براساس دو مولفه اول در گیاه یونجه توسط خدارحم‌پور (۷) در شرایط تنش خشکی به انجام رسیده است.

به منظور تعیین قرابت ژنوتیپ‌های مورد بررسی و گروه‌بندی آنها در ارتباط با صفات اندازه‌گیری شده، از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و با مربع فاصله اقلیدسی به عنوان معیار فاصله استفاده شد و با برش دندروگرام در فاصله بین ۴/۸۹ و ۹/۷۷ ژنوتیپ‌ها به سه خوشه تقسیم شدند. خوشه اول شامل لاین‌های KFA_1، KFA_2، KFA_3، KFA_4، KFA_5، KFA_6، KFA_7، KFA_{11}، KFA_{13}، KFA_{14}، KFA_{17} و رقم بغدادی، خوشه دوم شامل KFA_8، KFA9، KFA_{10}، KFA_{12}، KFA_{15} و KFA_{16} و خوشه سوم شامل رقم بمی گرمسیری، یزدی گرمسیری و نیکشهری گرمسیری می‌باشد. استفاده از تجزیه خوشه‌ای به منظور گروه‌بندی ارقام یونجه توسط خدارحم‌پور و همکاران (۸) و حاذق جعفری و همکارن (۳) با روش وارد صورت گرفته است.

از آنجایی که ژنوتیپ‌های موجود در هر یک از خوشه‌ها دارای قرابت ژنتیکی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های موجود در خوشه‌های دیگر هستند، بنابراین در صورت نیاز به دورگ‌گیری می‌توان با توجه به ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های مختلف، برای بهره‌وری بیشتر از پدیده‌هایی همچون هتروزیس و تفکیک متجاوز استفاده کرد. در کارهای به‌نژادی، معمولاً برای ایجاد تنوع ژنتیکی یا انتقال صفات مطلوب از یک والد به والد دیگر و به عبارت دیگر، بهبود بخشیدن و اصلاح یک گیاه از تلاقی بین دو یا چند والد مختلف استفاده می‌شود. بنابراین هر چه افرادی که تشابه کمتری دارند با یکدیگر تلاقی داده شوند، صفات متنوع‌تری بدست خواهد آمد. همچنین برای استفاده از پدیده هتروزیس

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-06-08]

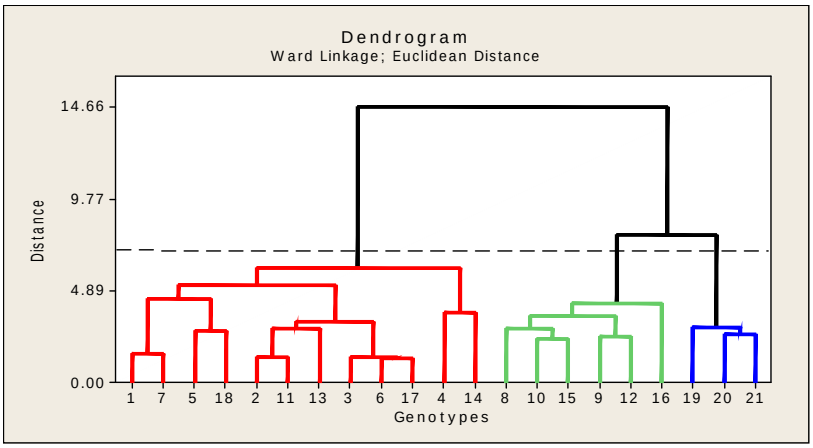
بایستی از افرادی استفاده کرد که از نظر ژنتیکی فاصله بیشتری با هم دارند. تجزیه خوشه‌ای این امکان را فراهم می‌سازد که افراد براساس صفات مختلف طوری گروه‌بندی شوند که افراد با شباهت بیشتر در گروه‌های نزدیک به هم و افراد با شباهت کمتر با فاصله بیشتر در گروه‌های دور از هم و براساس آن می‌توان برای اهداف موردنظر افراد مناسب را برای تلاقی یا سایر کارهای اصلاحی انتخاب کرد.



شکل ۱- نمودار بای پلات ژنوتیپ‌های یونجه در برداشت‌های مختلف بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم

Figure 1. Biplot graph of alfalfa genotypes in different harvests basis on first and second components

1: KFA_1, 2: KFA_2, 3: KFA_3, 4: KFA_4, 5: KFA_5, 6: KFA_6, 7: KFA_7, 8: KFA_8, 9: KFA_9, 10: KFA_{10}, 11: KFA_{11}, 12: KFA_{12}, 13: KFA_{13}, 14: KFA_{14}, 15: KFA_{15}, 16: KFA_{16}, 17: KFA_{17}, 18: بغدادی, 19: بمی گرمسیری, 20: نیکشهری گرمسیری, 21: یزدی گرمسیری



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۱ ژنوتیپ یونجه در برداشت‌های مختلف بر اساس ۸ صفت مورد مطالعه

Figure 2. The dendrogram of cluster analysis of 21 alfalfa genotypes in different harvests basis on 8 studied traits

1: KFA_1, 2: KFA_2, 3: KFA_3, 4: KFA_4, 5: KFA_5, 6: KFA_6, 7: KFA_7, 8: KFA_8, 9: KFA_9, 10: KFA_{10}, ws11: KFA_{11}, 12: KFA_{12}, 13: KFA_{13}, 14: KFA_{14}, 15: KFA_{15}, 16: KFA_{16}, 17: KFA_{17}, 18: بغدادی ,19: بمی گرمسیری 20: نیکشهری گرمسیری ,21: یزدی گرمسیری

تابع تشخیص به بررسی نحوه تفکیک دو یا چند گروه از افراد از نظر اندازه‌گیری‌های انجام شده روی چند متغیر می‌پردازد که هدف از این تابع، تشخیص افراد متعلق به دو جمعیت متفاوت است که دارای مقداری تداخل هستند (۱۰). تجزیه تابع تشخیص برای آزمون درستی گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط پژوهش‌گران دیگر نیز بررسی شده است (۱۲،۵). نتایج تابع تشخیص نشان داد که ۱۰۰ درصد ژنوتیپ‌ها به گروه خود تعلق دارند (جدول ۶).

نتایج تجزیه واریانس نشان‌گر وجود تنوع ژنتیکی بالا بین ژنوتیپ‌ها براساس صفات تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی، ارتفاع بوته، عملکرد علوفه تر و خشک بود. با در نظر گرفتن همبستگی صفات و ویژگی هر یک از مولفه‌ها در برنامه‌های اصلاحی آینده باید در جهت افزایش هر دو مولفه تلاش کرد. سهولت تشخیص یا اندازه‌گیری صفات یا صفاتی که با عملکرد علوفه بالا رابطه داشته باشند، دارای اهمیت خاص در برنامه‌های به‌نژادی می‌باشد. بطوری که این صفات بایستی براحتی قابل تشخیص باشند و باعث سهولت در گزینش و افزایش کارایی آن گردد.

در مجموع تطابق خوبی بین نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی وجود داشت. بطوریکه با توجه به نمودار بای پلات و نمودار خوشه‌ای پراکنش ژنوتیپ‌ها در محور دوبعدی با دندروگرام همخوانی داشت. نظر به اینکه لاین‌های KFA_1، KFA_2، KFA_3، KFA_4، KFA_5، KFA_6، KFA_7، KFA_{11}، KFA_{13}، KFA_{14}، KFA_{17} به

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-06-08]

همراه رقم بغدادی که محلی شهرستان شوشتر می‌باشد همگی در یک خوشه قرار گرفتند و با توجه به اینکه این گروه طبق نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی و نمودار بای پلات حائز عملکرد علوفه بالایی می‌باشند; بنابراین برای تحقیقات بیشتر در آینده توصیه می‌شوند. نشانگرهای مورفولوژیک علیرغم کارایی بالا در تشخیص و طبقه‌بندی گونه‌ها، به علت تأثیرپذیری از محیط کارایی کمتری در تعیین میزان تنوع ژنتیکی دارند (۱۷). با اینحال تفسیر نتایج بدست آمده از این آزمایش به دلیل اینکه در یک محیط کشت شده‌اند; فقط برای محیطی است که در آن بررسی بعمل آمده است.

تشکر و قدردانی

با تشکر از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر که شرایط را برای اجرای این پژوهش فراهم نمودند.

جدول ۶- نتایج تابع تشخیص برای صحت گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد بررسی

Table 6. Results of discriminant analysis for grouping studied genotypes

	اعضا پیش‌بینی شده گروه‌ها		
کلاستر	۱	۲	۳
۱	۱۲	۰	۰
۲	۰	۶	۰
۳	۰	۰	۳
جمع کل	۱۲	۶	۳
تعداد صحیح	۱۲	۶	۳
نسبت	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰

منابع

1. Basafa, M. and M. Taherian. 2006. Study of genetic variation in alfalfa ecotypes (*Medicago sativa* L.) from cold region of Iran, using morphological characters. Iranian Journal of Crop Sciences, 8: 121-138 (In Persian).
2. Farshadfar, A. 2009. Molecular Plant Breeding. Taghe Bostan Press, Kermanshah, Iran, 815 pp (In Persian).
3. Hazegh Jafari, H., S. Aharizad, S.A. Mohammadi, F. Noormand Moayyed and P. Behrooz. 2014. Grouping of Alfalfa Genotypes Based on Different Characteristics using Multivariate Statistical Analysis. Journal of Crop Breeding, 6: 107-121.
4. Jackson, J.E. 1991. A user's guide to principal components. Wiley, New York.
5. Jaynes, D.B., T.C. Kaspar, T.S. Colvin and D.E. James. 2003. Cluster analysis of spatio temporal corn yield (atterns in a lowa field). Agronomy Journal, 95: 574-586.
6. Julier, B., C.H. Huyghe and C.H. Ecall. 2000. Within and among cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology and yield. Crop Science, 4: 362-365.
7. Khodarahmpour, Z. 2013. Screening of alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars for drought tolerance at germination stage and seedling growth. Research on Crops, 14: 571-575.
8. Khodarahmpour, Z., A. Soltani and A.A. Jafari. 2012. Study of Genetic Diversity Tolerance o Salinity Stress in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Varieties Basis on Seedling Growth. Journal of Crop Breeding, 4: 29-45.
9. Le Singor, C., K. Gallardo, M.J. Prosper, C. Salon, L. Quillien and K. Thompson. 2005. Genetic diversity for seed protein composition in *Medicago trunculata*. Plant Genetic Resources, 3: 59-71.
10. Moghaddam, M., A. Mohammadi-Shoti and M. Aghaei-Sarbarzeh. 1994. Introduction to Multivariate Statistical Methods. Science Vanguard Publishers, Tabriz, Iran, 208 pp.
11. Mohammadi, S.A. and B.M. Prasanna. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants- Salient statistical tools and considerations. Crop Science, 43: 1235-1248.
12. Moreda, A.P., A. Fiher and S.J. Hill. 2003. The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data. Journal of Food Composition and Analysis. 16: 195-211.
13. Musial, J.M., K.E. Basford and J.A. Girwin. 2002. Analysis of genetic diversity within Australian Lucerene cultivars and implication for future genetic improvement. Australian Journal of Agricultural Research, 53: 629-636.
14. Pour Farhad, A., F. Nourmand Moayed, S. Aharizad and A. Ashraf Jafari. 2009. Grouping of alfalfa ecotypes through multivariate analysis. Journal of Agriculture Science, 3: 1-13 (In Persian).
15. Rezaei, A. 1994. Alfalfa Breeding. University Publication Center (Markaze Nashr Daneshghahi), Tehran, 120 pp (In Persian).
16. Veronesi, F., B. Charles and C. Huyghe. 2010. Alfalfa. Springer Science, pp: 395-436.
17. Zaccardelli, M., S. Gnocchi, M. Carelli and C. Scotti. 2003. Variation among and within Italian alfalfa ecotypes by means of bio-agronomic characters and amplified fragment length polymorphism analyses. Plant Breeding, 122: 61-65.
18. Zamaniyan, M. 2003. Evaluation of qualitative and quantitative yield forage of alfalfa varieties in different harvests. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. 1: 1-18 (In Persian).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-06-08]

Study of Genetic Diversity of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Genotypes Via Multivariate Analysis

Zahra Khodarahmpour[1] and Mohammad Motamedi[2]

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran (Corresponding author: zahra_khodarahm@yahoo.com)
2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran
Received: February 27, 2015 Accepted: June 13, 2015

Abstract

This study was conducted to investigate the genetic diversity of alfalfa genotypes by multivariate analyses using agronomic and morphological traits. For this purpose, 20 alfalfa genotypes with local control Baghdadi was considered as the first factor and three harvest was used as the second factor. This experiment was performed to split plot at the time in randomized complete block design with three replications in 2013 at the College of Agriculture, Islamic Azad University of Shoushtar. Correlation results showed the most significant positive correlation between forage yield and dry matter yield (0.95^{**}). Two traits forage yield and days to 50% flowering, versus dry matter yield entered in the model using stepwise regression. Principal component analysis showed that 63% of total variance was justified by the first two components. Biplot and cluster analysis results of under study were classified into three groups. In the first group, including lines KFA1, KFA2, KFA3, KFA5, KFA6, KFA7, KFA11, KFA13, KFA17 Baghdadi variety were desirable for high forage yield. In the second group there were lines KFA8, KFA9, KFA10, KFA12, KFA15 and KFA16 that had low forage yield and quality. The third group were includes cultivars of Bami Garmsiri, Yazdi Garmsiri and Nikshahri Garmsiri that had desirable quality forage. Results of discriminant function showed that 100% of genotypes were belong to their own group.

Keywords: Alfalfa, Correlation, Cluster analysis**,** Principal components analysis, Regression

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-06-08]