

بررسی تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های یونجه زراعی (*Medicago sativa* L.) با استفاده از صفات مورفولوژیک

Study of genetic diversity in some populations of cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) using morphological traits

بابک عبدالهی مندولکانی

استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

Abdollahi Mandoulakani B

1- Assistant professor, Department of Agronomy and Plant breeding, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: b.abdollahi@urmia.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۳)

چکیده

ارزیابی تنوع ژنتیکی و ایجاد کلکسیون‌های مرکزی ژرمپلاسما برای تسهیل مدیریت ژرمپلاسما و ارزیابی بهتر منابع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی ضروری می‌باشند. علیرغم تنوع مورفولوژیکی بالا در ژرمپلاسما یونجه، این تنوع به اندازه کافی در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار نگرفته است. بنابراین آزمایشی به منظور تعیین تنوع ژنتیکی ۱۱۰ ژنوتیپ متعلق به ۱۱ جمعیت مختلف یونجه زراعی با استفاده از ۱۳ صفت مورفولوژیک در شرایط مزرعه‌ای انجام شد. جمعیت‌ها از نظر کلیه صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌دار آماری ($P < 0.01$) داشتند. ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی برای اکثر صفات بالا بود. نتایج ضرایب همبستگی بین صفات نشان داد که هر چه وزن ساقه در یونجه بیشتر باشد، وزن برگ‌های بوته نیز بیشتر خواهد شد. بر اساس نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی، سه مولفه اول تقریباً ۸۸/۱ درصد از تغییرات کل را توجیه نمود. مولفه اول با صفات وزن تر کل، وزن خشک کل، وزن تر برگ، وزن ساقه و وزن خشک ساقه و مولفه دوم با صفات نسبت وزن خشک برگ به ساقه و تعداد برگ و همچنین مولفه سوم با صفات میزان کلروفیل و ارتفاع بوته ارتباط مثبتی نشان داد. نتایج تجزیه کلاستر، جمعیت‌های مورد بررسی را در دو گروه اصلی قرار داد که هر کدام شامل دو زیر گروه بودند. ارزیابی تنوع فنوتیپی موجود، می‌تواند اطلاعات مفیدی در مدیریت کلکسیون‌ها فراهم آورد و در شناسایی جمعیت‌های مناسب برای اهداف اصلاحی مختلف در یونجه مفید باشد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه کلاستر،
تنوع ژنتیکی،
صفات مورفولوژیک،
یونجه زراعی،
PCA

مقدمه

یونجه زراعی (*Medicago sativa* L.) به عنوان مهمترین گیاه علوفه‌ای دنیا، از منطقه کائوکا سوس (Caucasus) یعنی شمال شرقی ترکیه، ارتفاعات ترکمنستان و شمال غربی ایران منشا یافته است (Tuck et al. 2008). تاکنون گونه‌های مختلفی از جنس *Medicago* در ایران شناسایی شده‌اند که بطور عمده بدلیل یکساله بودن و یا اقتصادی نبودن، کشت آنها بعنوان گیاهان زراعی مورد توجه نبوده است. این گیاه اتوتتراپلوئید ($2n=4x=32$) و آلوگام بوده و توارث تراسومیک همراه با پسروری خویش آمیزی زیاد، مطالعات ژنتیکی در این گیاه را در مقایسه با سایر گیاهان زراعی با مشکل مواجه می‌سازد. در بسیاری از منابع، مناطقی از ایران به عنوان مرکز تنوع و خاستگاه یونجه معرفی شده است (Sauer 2008; Sandrine et al. 1993). بطوریکه این گیاه بطور گسترده به صورت وحشی و بومی در نقاط مختلف ایران وجود دارد و در سطح وسیعی به عنوان گیاه علوفه‌ای پر محصول کشت و کار می‌شود (Karimi 1987). متداول بودن کشت و کار ارقام و اکوتیپ‌های یونجه و همچنین توانایی خوب این گیاه در سازگاری با شرایط جدید، موجب افزایش تنوع و مشکل‌تر شدن شناسایی توده‌های آن شده است. بیشتر اطلاعات موجود عموماً در زمینه مقایسه خصوصیات کمی و کیفی ارقام است. این اطلاعات برای شناسایی و طبقه‌بندی توده‌های بومی کافی نبوده و بررسی‌های دقیقتر، جامع‌تر و منسجم‌تری برای شناسایی و طبقه‌بندی توده‌های محلی کشور ایجاب می‌کند (Veronesi et al. 2010). در یونجه وراثت پذیری برای عملکرد علوفه کم است و گزینش برای آن دیر به نتیجه می‌رسد (Yazdi-Samadi and Abd-Mishani 1993). بنابراین ادامه روند افزایش تولید و بهبود کیفیت مواد غذایی بستگی به حفاظت و بکارگیری موثر منابع ژنتیکی دارد، که نیل به این هدف مستلزم حفاظت، ارزیابی، ثبت و تبادل این مواد است (Abd-Mishani and Shahnejat Bushehri 1997). شناسایی صفات مهم در گونه‌های گیاهی که در سازگاری، عملکرد و کیفیت نقش دارند و ارزیابی پتانسیل ژنتیکی صفات فوق و جستجوی منابع ژنی برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی و انتقال ژن‌های مطلوب به ارقام مورد نظر، از جمله راهکارهای اصلاح نباتات است. توجه به این اصول، بیانگر این واقعیت است

که تنوع ژنتیکی، اساس اصلاح نباتات است. شناسایی و ارزیابی ذخایر توارثی یونجه از نظر وجود ژن‌های مورد نظر به میزان تنوع ژنتیکی موجود در گیاهان زراعی و خویشاوندان وحشی آنها بستگی دارد (Singhet et al. 1989). تنوع ژنتیکی از مهمترین شاخص‌ها جهت انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی گیاهان می‌باشد (Fareghi et al. 2007). کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی در بین افراد یا جمعیت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی گونه‌های مورد نظر، امکان سازماندهی ذخایر توارثی و نمونه‌گیری موثر از ژنوتیپ‌ها و بهره‌برداری بهتر از تنوع در برنامه‌های اصلاحی را فراهم می‌سازد (Sharma et al. 2002). مطالعه تنوع ژنتیکی نه تنها برای سازماندهی و حفاظت مواد گیاهی، بلکه برای پدیده هتروزیس و تولید بذور هیبرید نیز حائز اهمیت است (Liliya 2000).

از نشانگرهای مورفولوژیک، جهت بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان به وفور استفاده می‌شود (Ba-Safa and Taherian 2005; Rezaei et al. 2011). در یونجه نیز در این خصوص مطالعات متفاوتی انجام گرفته است. نتایج بررسی تنوع صفات مورفولوژیک در یونجه‌های اسپانیا نشان داد که اگر چه یونجه‌های زراعی نسبت به یونجه‌های وحشی اختلاف زیادی در صفات کمی و کیفی نشان می‌دهند ولی بین این گونه‌ها جریان ژنی اتفاق می‌افتد (Prosperi et al. 2006). بررسی تنوع ۲۱ اکوتیپ یونجه نواحی سردسیری کشور با استفاده از ۲۲ صفت مورفولوژیک و تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که شش مولفه مشترک ۸۰/۴۵ درصد واریانس جمعیت‌های مورد مطالعه را توجیه می‌کنند و صفات ارتفاع بوته، وزن تر برگ و ساقه دارای اهمیت و تنوع زیادی در جمعیت‌های مورد مطالعه می‌باشد (Ba-Safa and Taherian 2005). در بررسی تنوع فنوتیپی ۸۱ اکوتیپ یونجه مختلف ایران و با انجام تجزیه کلاستر، اکوتیپ‌های مورد بررسی در سه گروه قرار گرفتند و در مقیاس دو بعدی دو مولفه اول، هر سه گروه از هم تفکیک شدند. همچنین ضرایب همبستگی بین صفات نشان داد که نقش ساقه در عملکرد علوفه یونجه مهمتر از برگ می‌باشد و موثرترین جز روی کمیت علوفه، ارتفاع بوته و وزن ساقه است (Rezaei et al. 2011). بنابر آنچه از منابع مختلف بر می‌آید، در یونجه، تنوع مطلوب و قابل قبولی در ذخایر توارثی

آزمایشی با یک خط نکاشت از همدیگر جدا شدند. میزان بذر مصرفی بر مبنای ۲۵ کیلوگرم در هکتار محاسبه شد و در هر خط ۶ گرم و مجموعاً در هر واحد آزمایشی ۳۰ گرم بذر مصرف ساقه (گرم)، تعداد برگ، تعداد ساقه، تعداد برگ به تعداد ساقه، وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و وزن خشک کل به وزن تر کل بودند. تمام اندازه‌گیری‌ها در مرحله رسیدن به ۱۰ درصد گلدهی انجام شد. برای اندازه‌گیری ارتفاع نمونه‌ها، از هر تکرار پنج گیاه انتخاب و در مجموع ارتفاع ۱۵ گیاه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن تر از هر تکرار دو گیاه و در مجموع شش گیاه از هر جمعیت از قسمت طوقه جدا شده و پس از اندازه‌گیری وزن کل شش بوته، برگ‌ها جدا شده و وزن برگ و ساقه جداگانه اندازه‌گیری شد. برگ‌ها و ساقه‌ها برای مدت ۷۲ ساعت در آون ۷۲ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک برگ و ساقه محاسبه گردید. نخست مقادیر صفات اندازه‌گیری شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. اجزای متشکله واریانس، ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنتیکی و همچنین میزان وراثت پذیری عمومی صفات بر مبنای اجزای متشکله واریانس تعیین شدند (Burton and DeVane 1953). برای بررسی وجود یا عدم وجود رابطه خطی بین متغیرهای مورد مطالعه، ضرایب همبستگی ساده پیرسون بین صفات محاسبه گردید. تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA)، به منظور کاهش داده‌های صفات مورد بررسی با استفاده از ماتریس همبستگی مربوطه انجام شد. به منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها تجزیه کلاستر به روش Ward یا حداقل واریانس بر مبنای مربع فاصله اقلیدسی به عنوان معیار فاصله انجام گرفت. به علت متفاوت بودن واحد اندازه‌گیری صفات و همچنین تفاوت زیاد در انحراف معیار با واحد اندازه‌گیری مشابه، نخست داده‌ها استاندارد و سپس برای گروه‌بندی جمعیت‌ها بکار گرفته شدند (Johnson 1998). تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم افزارهای SAS 9.1، SPSS 15 و 14 MINITAB انجام شد.

از نظر اکثر صفات موجود است. در سال‌های اخیر برخی جمعیت‌های بونجه از کشورهایی مانند آذربایجان، ترکیه، روسیه و آمریکا در منطقه آذربایجان غربی کشت می‌شود که نمود عملکرد خوبی را در شرایط مزرعه‌ای در این استان نشان می‌دادند ولی هیچ گونه ارزیابی مورفولوژیکی روی این توده‌ها و همچنین توده‌های رایج در این منطقه صورت نگرفته بود. بنابراین هدف از این تحقیق ارزیابی تنوع ژنتیکی بونجه‌های رایج در استان آذربایجان غربی و برخی توده‌های خارجی کشت شده در این منطقه از طریق تجزیه و تحلیل‌های چند متغیره و گروه‌بندی آنها و شناسایی جمعیت‌ها و افراد دارای فاصله ژنتیکی مناسب برای تولید هیبرید یا سمی هیبرید در بونجه بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار و با استفاده از ۱۱۰ ژنوتیپ متعلق به ۱۱ جمعیت مختلف بونجه زراعی (جدول ۱) انجام شد. هر جمعیت در ۵ خط ۵ متری با فاصله خطوط ۵۰ سانتیمتر کشت گردید. کرت‌های

جدول ۱- جمعیت‌های مختلف بونجه مطالعه شده و منشا آنها

جمعیت	منشا	تعداد افراد مورد مطالعه از هر جمعیت
قره بونجه ملک کندی	ایران- خوی	۱۰
قره بونجه ارومیه	ایران- ارومیه	۱۰
قره بونجه قارقلوق	ایران - ارومیه	۱۰
محلی اصفهانی	ایران- اصفهان	۱۰
همدانی	ایران- همدان	۱۰
آذربایجان اردوبار	آذربایجان	۱۰
ترکیه ساکونل	ترکیه	۱۰
ترکیه Elgi	ترکیه	۱۰
کدی	آمریکا	۱۰
کریساری	نامعلوم	۱۰
سیمر جنس کایا	شوروی سابق	۱۰

شد. صفات مورد بررسی شامل ارتفاع بوته (سانتی متر)، میزان کلروفیل، وزن تر کل (گرم)، وزن خشک کل (گرم)، وزن تر برگ (گرم)، وزن خشک برگ (گرم)، وزن تر ساقه (گرم)، وزن خشک

¹ Principle component analysis

نتایج و بحث

جدول ۲ ضریب تنوع، کمترین و بیشترین مقدار، دامنه و میانگین صفات و میانگین مربعات منابع مختلف تغییر را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود اختلاف بین جمعیت‌ها برای کلیه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و بنابراین بین جمعیت‌ها از نظر این صفات تنوع زیادی وجود دارد. دامنه تغییرات گسترده صفات مورد مطالعه نیز این مطلب را تایید می‌کند. همچنین با توجه به هتروزیگوسیتی زیاد و دگرگشتی قابل توجه در یونجه تنوع زیاد صفات مورد انتظار بود (Veronesi et al. 2010). در بین صفات مورد بررسی، نسبت وزن خشک برگ به ساقه، بیشترین ضریب تنوع و صفت نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل کمترین ضریب تنوع را دارا می‌باشند. مطالعات قبلی نشان دادند که صفت وزن خشک ساقه در یونجه دارای بیشترین ضریب تنوع می‌باشد بنابراین احتمالاً وزن خشک ساقه مشارکت بیشتری در تنوع صفت وزن خشک برگ به ساقه داشته است (Rezaei et al. 2011).

جدول ۲- میانگین مربعات منابع مختلف تغییر در تجزیه واریانس، ضرایب تنوع، دامنه و میانگین صفات مختلف در ۱۱ جمعیت یونجه

صفات ^a	تکرار	میانگین مربعات			دامنه		
		جمعیت	خطا	ضریب تنوع	حد اقل	حد اکثر	میانگین
H	۳۰۰۴/۶*	۵۹۴/۸**	۸۷/۷	۹/۹۷	۳۵/۵	۱۵۱	۹۳/۹±۱۵/۹
CN	۱۴۲/۶**	۱۴۹/۸**	۱۰/۲	۲۳/۹	۱۲	۵۱/۹	۱۳±۵/۴
WT	۳۳۷/۳**	۱۹۱۸/۵**	۱۴۹/۹	۱۹/۱	۸	۴۱۰	۲۰۱/۳±۱۹/۲
DT	۴۳۲/۸**	۱۵۷۱/۵**	۱۷۲/۶	۲۲/۴	۴	۱۳۷	۶۹/۱±۲۲/۴
LW	۱۱۵۷۲**	۵۶۹۷/۲**	۵۵۷/۹	۲۱/۶	۴	۲۲۷	۱۰۸/۹±۴۰/۲
LD	۷۴۱/۵*	۳۳۳/۵**	۴۴/۲	۱۱/۳	۳	۶۴	۲۹/۷±۱۱/۳
SW	۴۵۳۲/۶**	۵۴۹۸/۵**	۲۵۰/۷	۱۸/۷	۴	۱۹۴	۸۴/۸±۲۶/۹
SD	۹۸۵/۷**	۶۸۱/۹**	۶۲/۴	۲۱/۷	۱۵	۷۸	۳۶/۳±۱۳/۴
LN	۳۱۱۸/۵**	۴۱۰۹/۹**	۷۹۴/۱	۱۳/۲	۲۱۰	۴۳۰	۳۲۵±۱۱۰/۹
SN	۱۳۲/۴*	۲۶۶/۹**	۶/۳	۱۲/۱	۱۲	۳۵	۲۰±۴/۲
LN/SN	۷۷۲۴/۲*	۶۰۷۷/۶**	۴۸۱/۸	۱۷/۱	۳۵	۵۲۵	۲۵۶/۷±۷۸/۱
LD/SD	۰/۶۳۸ ^{ns}	۰/۱۲۳**	۰/۱۰۷	۳۲/۹	۰/۵	۳	۱/۱±۰/۶
DT/W	۰/۰۱۶**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۱	۶/۵	۰/۲۸	۰/۵	۰/۳۸±۰/۰۲۲
T							

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد. درجات آزادی تکرار، جمعیت و خطا به ترتیب ۲، ۱۰ و ۲۰.

^a ارتفاع (H)، میزان کلروفیل (CN)، وزن تر کل (WT)، وزن خشک کل (DT)، وزن تر برگ (LW)، وزن خشک برگ (LD)، وزن تر ساقه (SW)، وزن خشک ساقه (SD)، تعداد برگ (LN)، تعداد ساقه (SN)، تعداد برگ به تعداد ساقه (LN/SN)، وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه (LD/SD)، وزن خشک کل به وزن تر کل (DT/WT)

برآورد اجزای واریانس و ضرایب تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی صفات در جدول ۳ آورده شده است. ضرایب تنوع فنوتیپی برای کلیه صفات از ضرایب تنوع ژنوتیپی بزرگتر بودند. بیشترین و کمترین مقدار ضرایب تنوع ژنتیکی، به ترتیب مربوط به صفات میزان کلروفیل و تعداد برگ بود.

جدول ۳- برآورد اجزای واریانس، ضرایب تنوع و توارث پذیری عمومی صفات مورد مطالعه در جمعیت‌های یونجه بررسی شده

صفات ^a	برآورد اجزای واریانس			ضریب تنوع	وراثت پذیری عمومی (درصد)
	ژنوتیپی	محیطی	ژنتیکی		
H	۲۵۶/۷۳	۱۶۹/۰۳	۸۷/۷	۱۳/۸۴	۱۷/۰۶
CN	۵۶/۷۳	۴۶/۵۳	۱۰/۲	۵۱/۲۹	۵۶/۶۳
WT	۷۳۸۹/۴	۵۸۹۶/۵	۱۴۹۲/۹	۳۸/۱۵	۴۲/۷
DT	۶۳۸/۹	۴۶۶/۳	۱۷۲/۶	۳۱/۲۵	۳۶/۵۸
LW	۲۲۷۱	۱۷۱۳/۱	۵۵۷/۹	۳۸/۰۱	۴۳/۷۶
LD	۱۴۰/۶	۹۶/۴	۴۴/۲	۳۳/۰۶	۳۹/۹۲
SW	۲۰۰۰	۱۷۴۹/۳	۲۵۰/۷	۴۹/۳۲	۵۲/۸۴
SD	۲۶۸/۹	۲۰۶/۵	۶۲/۴	۳۹/۵۹	۴۵/۱۷
LN	۱۸۹۹۳/۳	۱۱۰۵۰/۲	۷۹۴۳/۱	۱/۵۶	۲/۰۴
SN	۹۳/۲	۸۶/۹	۶/۳	۴۵/۰۳	۴۶/۶۴
LN/SN	۲۳۴۶۶/۴	۱۸۶۵۳/۶	۴۸۱۲/۸	۳۳/۵	۳۳/۸
LD/SD	۰/۱۷۶	۰/۰۰۵۳	۰/۱۰۷	۶/۶۲	۳۸/۱۴
DT/WT	۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۱	۶/۹۶	۱۰/۸۵

جدول ۴ ضرایب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده روی جمعیت‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. وزن تر برگ بالاترین همبستگی را با عملکرد علوفه تر (۰/۹۸) داشت. همبستگی عملکرد علوفه تر با وزن تر ساقه (۰/۹۷)، وزن خشک ساقه (۰/۹۵) و وزن خشک برگ مثبت و معنی‌دار بود. وزن تر برگ دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با وزن خشک برگ (۰/۹۴)، وزن تر ساقه (۰/۹۱) و وزن خشک ساقه (۰/۸۹) بود. همچنین وزن تر ساقه همبستگی مثبت و معنی‌دار با وزن خشک ساقه (۰/۹۸)، وزن تر برگ (۰/۹۱) و وزن خشک برگ (۰/۸۸) داشت. همبستگی وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه نیز مثبت و معنی‌دار (۰/۸۸) بود. همبستگی‌های فوق نشان داد که هر چه وزن ساقه در یونجه بیشتر باشد، وزن برگ‌های بوته نیز بیشتر خواهد بود. گزارش شده که رابطه نسبت برگ به ساقه (کیفیت علوفه) با عملکرد علوفه تر (۰/۴۸-) معنی‌دار و منفی می‌باشد که این بیانگر نقش مهمتر ساقه در عملکرد علوفه یونجه است (Ba-Safa and

جدول ۴- ضرایب همبستگی دوگانه میان صفات اندازه گیری شده در جمعیت‌های یونجه مورد مطالعه

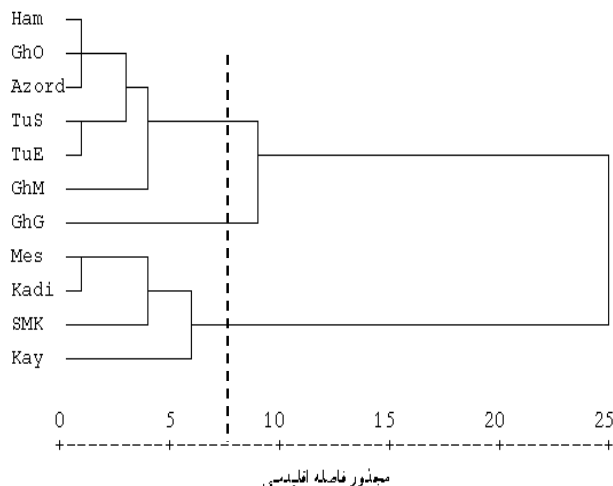
صفات ^a	H	CN	WT	DT	LW	LD	SW	SD	LN	SN	LN/SN	LD/SD	DT/WT
H	۱												
CN	۰/۰۰۵	۱											
WT	۰/۵۷**	-۰/۱۹۸	۱										
DT	۰/۵۹**	-۰/۱۸۹	۰/۹۸**	۱									
LW	۰/۵۱**	-۰/۲۲*	۰/۹۸**	۰/۹۵**	۱								
LD	۰/۴۹**	-۰/۲۳*	۰/۹۴**	۰/۹۶**	۰/۹۵**	۱							
SW	۰/۶۱**	-۰/۱۵	۰/۹۷**	۰/۹۶**	۰/۹۱**	۰/۸۸**	۱						
SD	۰/۶۴**	-۰/۱۵	۰/۹۵**	۰/۹۸**	۰/۸۹**	۰/۸۸**	۰/۹۸**	۱					
LN	۰/۳۴**	-۰/۲۷*	۰/۶۷**	۰/۶۳**	۰/۶۸**	۰/۶۴**	۰/۶۴**	۰/۵۹**	۱				
SN	۰/۰۵	-۰/۲۸**	۰/۵۸**	۰/۵۳**	۰/۵۵**	۰/۵۱**	۰/۵۱**	۰/۵۱**	۰/۸۱**	۱			
LN/SN	۰/۴۵**	-۰/۱۲	-۰/۴۳**	۰/۴۲**	۰/۴۵**	۰/۴۵**	۰/۳۸**	۰/۳۷**	۰/۶۵**	۰/۴۳	۱		
LD/SD	-۰/۴۹**	-۰/۰۷	-۰/۲۰	-۰/۲۰	-۰/۱۱	-۰/۰۴	۰/۳**	-۰/۳۳**	-۰/۰۵	-۰/۰۶	-۰/۰۷	۱	
DT/WT	-۰/۱۳	-۰/۱۰	-۰/۲۹**	-۰/۱۲	-۰/۳۳**	-۰/۱۳	-۰/۲۲*	-۰/۱۰	-۰/۳۱**	-۰/۰۸**	-۰/۱۹	۰/۲۰	۱

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح پنج و یک درصد

^a ارتفاع (H)، میزان کلروفیل (CN)، وزن تر کل (WT)، وزن خشک کل (DT)، وزن تر برگ (LW)، وزن خشک برگ (LD)، وزن تر ساقه (SW)، وزن خشک ساقه (SD)، تعداد برگ (LN)، تعداد ساقه (SN)، تعداد برگ به تعداد ساقه (LN/SN)، وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه (LD/SD)، وزن خشک کل به وزن تر کل (DT/WT)

آمده است. مولفه‌های سه‌گانه مجموعاً ۸۸/۱ درصد از تغییرات موجود بین ۱۱۰ ژنوتیپ را توجیه کردند. مولفه اول ۶۲ درصد از واریانس کل را توجیه کرد و با توجه به متغیرهای دخیل در آن (وزن تر کل، وزن خشک کل، وزن تر برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه) به عنوان مولفه تولید علوفه شناخته شد. مولفه دوم ۱۵/۳ درصد از واریانس کل را بیان کرد و به دلیل وجود متغیرهایی که از آن تأثیر می‌پذیرفتند (نسبت وزن خشک برگ به ساقه، تعداد برگ) به عنوان مولفه کیفیت علوفه، و در نهایت متغیرهای میزان کلروفیل و ارتفاع بوته موجود که در مولفه سوم ۱۰/۸ درصد از واریانس کل را توجیه کردند به عنوان مولفه طول دوره رویشی شناخته شدند. بر اساس نتایج تجزیه به مولفه - های اصلی در مطالعه تنوع ژنتیکی ۸۱ اکوتیپ یونجه از نواحی مختلف ایران نیز سه مولفه اصلی استخراج گردید که این مولفه ها بر روی هم، ۸۹/۷ درصد از واریانس موجود بین کل داده‌ها را توجیه کردند. مولفه اول ۴۷/۷ درصد، مولفه دوم ۲۵/۸ درصد و مولفه سوم ۱۶/۲ درصد از تغییرات در داده‌ها را توجیه نمودند و

(Taherian 2005). همچنین همبستگی بین صفت نسبت برگ به ساقه با عملکرد علوفه تر معنی‌دار و منفی بود، بنابراین موثرترین جز بر روی کمیت علوفه، ارتفاع بوته و وزن ساقه است (Abd- Mishani and Shahnejat Bushehri 1997). در حالیکه هر چه نسبت برگ به ساقه بیشتر شود، کیفیت پروتئین علوفه بالاتر می‌رود نسبت برگ به ساقه تحت تأثیر زمان برداشت قرار دارد، طوری که در نتیجه برداشت دیرتر (از نظر مرحله فنولوژیک) ریزش برگ‌های تحتانی بوته و همچنین افزایش میزان لیگنینی شدن ساقه، موجب کاهش این نسبت در علوفه شده و از طرفی برگ‌ها با داشتن رطوبت بیشتر و ماده خشک کمتر نسبت به ساقه، تأثیر بیشتری در تغییرات عملکرد علوفه تر دارند. قبلاً اشاره شده است که زمان برداشت اثر معنی‌داری بر تغییرات نسبت برگ به ساقه دارد و تاخیر در برداشت این نسبت را کاهش می‌دهد (Sheaffer et al. 2000). با استفاده از تجزیه به مولفه‌های اصلی سه عامل استخراج شد. واریانس هر کدام از مولفه‌های سه‌گانه، درصد واریانس هر عامل به واریانس کل و واریانس تجمعی در جدول ۵



شکل ۱- دندروگرام جمعیت‌های مورد مطالعه حاصل از روش Ward بر اساس صفات بررسی شده (Ham) همدانی، (Gho) قره یونجه ارومیه، (Aord) آذربایجان اردوبار، (TuS) ترکیه ساکول، (TuE) ترکیه Elgi، GhM، قره یونجه ملک کندی، (GhG) قره یونجه قارقلوق، (Mes) محلی اصفهانی، (Kadi) کدی، (SMK) سیمرجنسک‌یا، (Kay) کریساری.

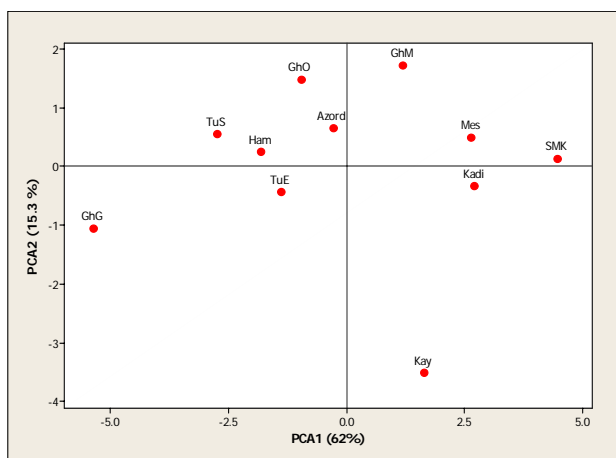
محدودی از این جمعیت‌ها با نشانگرهای IRAP و REMAP گزارش شده که گروه‌بندی جمعیت‌ها با منشا جغرافیایی آنها مطابقت ندارد و تمایز پایینی بین جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارد (Mandoulakani et al. 2012 Abdollahi). همچنین در ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های یونجه ایرانی با نشانگرهای EST-SSR بیان شده که احتمالاً تغییرات ژنتیکی جمعیت‌های یونجه با تنوع مبدا جغرافیایی آنها رابطه متناسبی دارد (Bahar et al. 2006). میانگین و انحراف معیار صفات اندازه-گیری شده برای هر گروه در جدول ۶ آورده شده است. جمعیت‌های گروه‌بندی شده در حالیکه جمعیت‌های قرار گرفته در کلاستر دوم دارای بیشترین نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و وزن خشک کل به وزن تر کل بودند. با توجه به اهمیت وزن تر و خشک برگ و ساقه در عملکرد علوفه یونجه به نظر می‌رسد در این خصوص جمعیت‌های موجود در کلاستر اول از اهمیت بالاتری برخوردار باشند. تجزیه به مولفه‌های اصلی، صفات مورد بررسی را به چند گروه مجزا تقسیم بندی نمود که به ترتیب اولویت، صفاتی که بیشترین تغییرات را توجیه می‌کنند در یک گروه قرار می‌گرفتند. با ترسیم یک نمودار دو بعدی بر

با توجه به تاثیر پذیری متغیرها، به ترتیب به عنوان مولفه تولید علوفه، مولفه کیفیت علوفه و مولفه طول دوره رشد رویشی شناخته شدند (Rezaei et al. 2011). به منظور گروه‌بندی جمعیت‌های مورد مطالعه، تجزیه کلاستر به روش Ward یا حداقل واریانس بر مبنای مربع فاصله اقلیدسی به عنوان معیار فاصله انجام گرفت. بر اساس این روش جمعیت‌ها در دو گروه اصلی قرار گرفتند که هر کدام از گروه‌ها نیز شامل دو زیر گروه بودند (شکل ۱). در کلاستر یک جمعیت‌های قره یونجه ارومیه، قارقلوق و ملک کندی، ترکیه ساکول و Elgi، همدانی و آذربایجان اردوبار قرار گرفتند و جمعیت‌های محلی اصفهانی، کدی، کریساری و سیمرجنسک‌یا در کلاستر دوم گروه‌بندی شدند. جمعیت‌هایی با منشا و صفات مورفولوژیک تقریباً مشابه در گروه‌های یکسان قرار گرفتند. در مطالعه تنوع ژنتیکی تعداد

جدول ۵- نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی بر روی صفات مختلف در جمعیت‌های یونجه مورد مطالعه

صفات	مولفه ۱	مولفه ۲	مولفه ۳
ارتفاع	۰/۶۹۳	-۰/۴۷۰	۰/۳۶۰
میزان کلروفیل	-۰/۲۵۴	-۰/۰۸۷	۰/۷۸۲
وزن تر کل	۰/۹۹۰	-۰/۰۳۱	۰/۰۰۵
وزن خشک کل	۰/۹۷۸	-۰/۱۳۴	۰/۰۳۱
وزن تر برگ	۰/۹۸۱	۰/۰۷۸	۰/۰۳۲
وزن خشک برگ	۰/۹۶۰	۰/۰۳۵	۰/۰۸۲
وزن تر ساقه	۰/۹۷۸	-۰/۱۶۰	-۰/۰۲۷
وزن خشک ساقه	۰/۹۵۹	-۰/۲۵۶	-۰/۰۰۸
تعداد برگ	۰/۸۲۳	۰/۴۸۴	-۰/۱۴۱
تعداد ساقه	۰/۶۵۱	۰/۲۶۳	-۰/۵۸۴
نسبت تعداد برگ به تعداد ساقه	۰/۶۸۶	۰/۴۳۰	۰/۴۸۳
نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه	-۰/۳۹۸	۰/۸۰۹	۰/۱۳۶
نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل	-۰/۳۰۲	-۰/۷۰۹	-۰/۱۸۸
درصد واریانس	۶۲	۱۵/۳	۱۰/۸
واریانس جمعی	۶۲	۷۷/۳	۸۸/۱

مسئله استفاده از نشانگرهای ملکولی مختلف همراه با نشانگرهای مورفولوژیک جهت شناسایی چنین تنوعی در ژرم پلاسما یونجه-های مطالعه شده بطور موثر و کاراتری می‌تواند در مدیریت مناسب برای اهداف اصلاحی مختلف در یونجه مفید باشد. در حال حاضر تنوع ژنتیکی این جمعیت‌ها همراه با اکوتیپ‌هایی از نواحی دیگر ایران با نشانگرهای ملکولی در حال بررسی است تا با تلفیق داده‌های حاصل از این مطالعه با داده‌های حاصل از نشانگرهای ملکولی ارزیابی دقیقی از تنوع ژنتیکی صورت گیرد و افراد و جمعیت‌هایی با فاصله ژنتیکی مناسب برای برنامه‌های اصلاحی یونجه انتخاب شوند.



شکل ۲- توزیع جمعیت‌ها بر اساس مولفه‌های اول و دوم (Ham) همدانی، (Gho) قره یونجه ارومیه، (Aord) آذربایجان اردوبار، (TuS) ترکیه ساکول، (TuE) ترکیه Elgi، (GhM) قره یونجه ملک کنده، (GhG) قره یونجه قارلوق، (Mes) محلی اصفهانی، (Kadi) کدی، (SMK) سیمرجنس کایا، (Kay) کربساری.

منابع

- Abd-Mishani S, Shahnejat Bushehri AA (1997) Plant Breeding. University of Tehran Publication, Tehran, Iran. (In Farsi).
- Abdollahi Mandoulakani B, Piri Y, Darvishzadeh R, Benoosi I, Jafari M (2012) Retroelement insertional polymorphism and genetic diversity in *Medicago sativa* populations revealed by IRAP and REMAP markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 30:286-296.
- Bahar M, Ghobadi S, Erfani-Moghadam V, Yamchi A, Talebie Bodaf M, Kaboli MM, Mokhtarzadeh AA (2006) Evaluation of genetic diversity in Iranian alfalfa populations using EST-SSRs. *Sciences and Techniques in Agriculture and Natural Resources* 2:141-153. (In Farsi).

جدول ۶- میانگین و انحراف معیار صفات در گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر جمعیت‌های یونجه مورد مطالعه به روش Ward

صفات	کلاستر ۱	کلاستر ۲
ارتفاع	۱۰۱/۹±۱۹/۵	۷۹/۹±۱۴/۹
میزان کلروفیل	۱۴±۸/۱	۱۱±۷/۳
وزن تر کل	۲۸۴/۹±۷۷/۲	۱۱۸/۲±۶۰/۱
وزن خشک کل	۸۳/۶±۲۵	۴۳/۸±۱۷
وزن تر برگ	۱۳۴±۴۶	۶۵/۲±۳۴/۱
وزن خشک برگ	۳۶±۱۱/۵	۱۸/۶±۸/۱
وزن تر ساقه	۱۰۳/۳±۴۵/۲	۵۲/۳±۲۷/۵
وزن خشک ساقه	۴۵/۹±۱۳/۳	۱۹/۵±۱۰/۳
تعداد برگ	۳۱۰±۶۵/۶	۲۷۵±۵۲/۶
تعداد ساقه	۲۳±۹/۷	۱۵±۷/۴
نسبت تعداد برگ به تعداد ساقه	۴۸۶/۲±۱۴۷/۸	۲۷۰/۳±۳۷
نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه	۰/۹۸±۰/۱۵	۱/۲±۰/۰۶
نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل	۰/۳۷±۰/۰۳	۰/۴±۰/۰۰۶

اساس دو مولفه اول (PCA1 و PCA2) که مهمترین صفات توجیه کننده تغییرات معرفی شدند، می‌توان میزان تفکیک گروه-های بدست آمده در روش Ward را بررسی نمود. در این تحقیق بر اساس نتایج دو مولفه اول تجزیه به مولفه های اصلی، بای پلات (Biplot) مربوطه ترسیم و وضعیت پراکنش جمعیت‌های موجود در کلاسترهای دوگانه بررسی گردید (شکل ۲). نتایج بای پلات نشان داد که هر دو کلاستر تقریباً از یکدیگر تفکیک شدند. تفکیک شدن جمعیت‌ها در کلاسترهای جداگانه نشان می‌دهد که این صفات معیارهای مناسبی در بررسی تنوع در جمعیت‌های یونجه می‌باشند.

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، تنوع ژنتیکی گسترده‌ای بین جمعیت‌ها از نظر صفات مورد بررسی وجود دارد که حاکی از ارزشمند بودن این ذخایر و لزوم توجه بیشتر در حفظ، نگهداری، ارزیابی و شناسایی آنهاست. گروه بندی جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس صفات مورفولوژیک بررسی شده با منشا جغرافیایی جمعیت‌های مورد مطالعه تا حدودی مطابقت داشت.

- Ba-Safa M, Taherian M (2005) Evaluation of genetic diversity among alfalfa ecotypes in Iranian cold region using morphological traits. *Iranian Journal of Plant Sciences* 8:121-137. (In Farsi).
- Burton GW, DeVane EH (1953) Estimating heritability in Tall Fescue (*Festuca arundinaceae*) from replicated clonal material. *Agronomy Journal* 45:478-481.
- Fareghi SH, Farshadfar M, Farshadfar E (2007) Study of chemical composition and nutrition value of perennial Lucerne (*Medicago sativa* L.) and genetic diversity based on SDS-PAGE markers. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 15: 196-210.
- Johnson DE (1998) Applied multivariate methods for data analysis. Duxbury publication, New York, USA, 625 p.
- Karimi H (1987) Planting and breeding of Forage Crops. University of Tehran publication, Tehran, Iran. (In Farsi).
- Liliya K (2000) Organization of plant genetic resources in Bulgaria. *Acta Horticulturae* 510: 247-259.
- Prosperi J, Jenczewski E, Angevain M, Ronfort J (2006) Morphologic and agronomic diversity of wild genetic resources of *Medicago sativa* L. collected in Spain. *Genet Resources and Crop Evolution* 53: 843-856.
- Rezaei M, Maali Amiri R, Naghavi MR, Mohammadi R, Kaboli MM (2011) Evaluation of phenotypic diversity in ecotypes of alfalfa (*Medicago sativa*) from Iran. *Iranian Journal of Field Crop Science* 41: 123-129 (In Farsi).
- Sandrine F, Joëlle R, Pierre B, Philippe B, Thierry H, Christian H, Bernadette J (2008) Genetic diversity among alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars coming from a breeding program, using SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 111: 1420-1429.
- Sauer JD (1993) Historical Geography of Crop Plants - A Select Roster. CRC publication, Florida, 540 p.
- Sharma KK, Crouch JH, Hash CT (2002) Application of biotechnology for crop improvement: prospect and constraints. *Journal of Plant Science* 163: 381- 395.
- Sheaffer CC, Martin NP, Lamb JFS, Cuomo GR, Jewett JG, Quering SR (2000) Leaf and stem properties of alfalfa entries. *Agronomy Journal* 92: 733-739.
- Singhet RP, Villareal RL, Rajaram S, Del Toro E (1989) Cataloguing dwarfing genes Rht1 and Rht2 in germplasm used by the bread wheat breeding program at CIMMYT. *Journal of Cereal Research Communication* 17: 273-279.
- Tuck M, Popovic S, Grljusic S, Bolaric S, Kozumplic V (2008) Genetic diversity of alfalfa (*Medicago* spp.) estimated by molecular markers and morphological characters. *Journal of Periodicum Biologorum* 110: 243-249.
- Veronesi F, Charles B, Huyghe C (2010) Alfalfa. Springer Sci, 395-436.
- Yazdi-Samadi B, Abd-Mishani S (1993) Breeding field crops. Tehran University publication, Tehran, Iran. (In Farsi).