

بررسی تنوع ژنتیکی برخی جمیعت‌های 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 ژرمپلاسم برای تسهیل مدیریت ژرمپلاسم و ارزیابی بهتر منابع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی ضروری می‌باشد. علیرغم تنوع مورفولوژیکی بالا در ژرمپلاسم 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 جمیعت مختلف یونجه زراعی با استفاده از ۱۳ صفت مورفولوژیک در شرایط مزرعه‌ای انجام شد. جمیعت‌ها از نظر کلیه صفات مورد بررسی تقاضه معنی دار 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 ترکل، وزن خشک کل، وزن تر برگ، وزن تر 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 مشتی نشان داد. نتایج تجزیه کلستر، تنوع ژنتیکی، صفات مورفولوژیک، یونجه زراعی، PCA

واژه‌های کلیدی

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

مقدمه

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 ساختارها جهت انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی گیاهان می‌باشد (Fareghi et al. 2007). کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی در بین افراد یا جمیعت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی گونه‌های مورد نظر، امکان سازماندهی ذخایر توارثی و نمونه گیری 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 اگرچه 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 اکوتویپ 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 جمیعت‌های مورد مطالعه را توجیه می‌کنند و صفات ارتفاع بوته، وزن تر برگ و ساقه دارای اهمیت و تنوع زیادی در جمیعت‌های مورد مطالعه می‌باشد (Ba-Safa and Taherian 2005). در بررسی تنوع فنوتیپی ۸۱ اکوتویپ یونجه مختلف ایران و با انجام تجزیه کلستر، اکوتویپ‌های 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

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 منشأ یافته است (Tuck et al. 2008). تاکنون گونه‌های مختلفی از جنس *Medicago* در ایران شناسایی شده‌اند که بطور عمده بدليل یکسانه بودن و یا اقتصادی بودن، کشت آنها بعنوان گیاهان زراعی مورد توجه نبوده است. این گیاه اتوترپلولئید ($2n=4x=32$) و آل‌گام بوده و توارث تتراسومیک همراه با پسروی 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 1993; Sandrine et al. 2008). بطوریکه این گیاه بطور گستردۀ 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). متدالو بودن کشت و کار ارقام و اکوتویپ‌های یونجه و همچنین توانایی خوب این گیاه در سازگاری با شرایط جدید، موجب افزایش تنوع و مشکل تر 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 ایجاد می‌کند (Veronesi et al. 2010). در یونجه وراثت پذیری برای عملکرد علوفه کم است و گزینش 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). این 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

آزمایشی با یک خط نکاشت از همدیگر جدا شدند. میزان بذر مصروفی بر مبنای ۲۵ کیلوگرم در هکtar محاسبه شد و در هر خط ۶ گرم و مجموعاً در هر واحد آزمایشی ۳۰ گرم بذر مصروف 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 ادرصد گلدهای 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 جمیعت 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 متشكله واریانس، ضرایب تنوع فتوتیپی و ژنتیکی و همچنین میزان وراثت پذیری عمومی صفات بر مبنای اجزای متشكله 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 (PCA¹)، به منظور کاهش داده‌های صفات مورد بررسی با استفاده از ماتریس همبستگی مربوطه انجام شد. به منظور گروه‌بندی جمیعت‌ها تجزیه کلاستر به عنوان 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 اندازه گیری مشابه، نخست داده‌ها استاندارد و سپس برای گروه‌بندی جمیعت‌ها بکار گرفته شدند (1998 Johnson). 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 جمیعت‌های یونجه از کشورهایی مانند آذربایجان، ترکیه، روسیه و امریکا در منطقه آذربایجان غربی کشت می‌شود که نمود و عملکرد خوبی را در شرایط مزرعه‌ای در این استان نشان می‌دادند ولی هیچ گونه ارزیابی مورفو‌لوزیکی روی این توده‌ها و همچنین توده‌های رایج در این منطقه صورت نگرفته بود. بنابراین هدف از این تحقیق ارزیابی تنوع ژنتیکی یونجه‌های 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 جمیعت‌ها و افراد دارای فاصله ژنتیکی مناسب برای تولید هیبرید یا سمی هیبرید در یونجه بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۱۰ ژنتیپ متعلق به ۱۱ جمیعت مختلف یونجه زراعی (جدول ۱) انجام شد. هر جمیعت در ۵ خط ۵ متری با فاصله خطوط ۵۰ سانتیمتر کشت گردید. کرت‌های

جدول ۱- جمیعت‌های مختلف یونجه مطالعه شده و منشا آنها

جمیعت	منشا	تعداد افراد مورد مطالعه از هر جمیعت
قره یونجه ملک کندي	ایران- خوي	۱۰
قره یونجه اروميه	ایران- اروميه	۱۰
قره یونجه قارلقوق	ایران - اروميه	۱۰
محل اصفهاني	ایران- اصفهان	۱۰
همدانی	ایران - همدان	۱۰
آذربایجان اردوبار	آذربایجان	۱۰
ترکيه ساکوئل	ترکيه	۱۰
Elgi	ترکيه	۱۰
کادي	امریکا	۱۰
کریساري	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

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

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

صفات [*]	ضرایب تنوع	فنوتیپی	ژنتیکی	محیطی	واراثت پذیری عمومی (درصد)	برآورده اجزای واریانس
						وراثت پذیری
H	۲۵۶/۷۳	۱۶۹/۰۳	۸۷/۷	۱۳/۸۴	۱۷/۰۶	۸۱/۱۲
CN	۵۶/۷۳	۵۱/۲۹	۱۰/۲	۴۶/۵۳	۵۶/۶۳	۹۰/۵۷
WT	۷۳۸۹/۴	۵۸۹۶/۵	۱۴۹۲/۹	۳۸/۱۵	۴۲/۷	۸۹/۳۴
DT	۶۳۸/۹	۴۶۶/۳	۱۷۲/۶	۳۱/۲۵	۳۶/۵۸	۸۵/۴۳
LW	۲۲۷۱	۱۷۱۳/۱	۵۵۷/۹	۳۸/۱۰	۴۳/۷۶	۸۶/۸۶
LD	۱۴۰/۶	۴۶/۴	۴۴/۲	۳۳/۰۶	۳۹/۹۲	۸۲/۸۲
SW	۲۰۰۰	۱۷۴۹/۳	۲۵۰/۷	۴۹/۳۲	۵۲/۷۴	۹۳/۵۲
SD	۲۶۸/۹	۲۰۶/۵	۶۲/۴	۳۹/۵۹	۴۵/۱۷	۸۷/۶۵
LN	۱۸۹۹۳/۳	۱۱۰۵/۲	۷۹۴۳/۱	۱/۵۶	۲/۰۴	۷۶/۴۷
SN	۹۳/۲	۸۶/۹	۶/۳	۴۵/۰۳	۴۶/۶۴	۹۶/۵۴
LN/SN	۲۳۴۶۶/۴	۱۸۶۵۳/۶	۴۸۱۲/۸	۳۳/۵	۳۳/۸	۹۹/۱۱
LD/SD	۰/۱۷۶	۰/۰۰۵۳	۰/۱۰۷	۶/۶۲	۳۸/۱۴	۱۷/۳۶
DT/WT	۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۱	۶/۹۶	۱۰/۸۵	۶۴/۱۵

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 معنی دار بود. وزن تر برگ (۰/۹۴)، دارای همبستگی مثبت و معنی دار 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 معنی دار 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 معنی دار (۰/۸۸) بود. همبستگی های 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) معنی دار و منفی می‌باشد که این بیانگر نقش مهمتر ساقه در عملکرد علوفه یونجه است (Ba-Safa and

Jedol ۲ ضریب تنوع، کمترین و بیشترین مقدار، دامنه و میانگین صفات و میانگین مربuat منابع مختلف تغییر را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود اختلاف بین جمعیت‌ها برای کلیه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی دار 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 هتروزیگوستی زیاد و دگرگشتنی 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 می‌باشد. مطالعات قبلی نشان دادند که صفت وزن خشک ساقه در یونجه دارای بیشترین ضریب تنوع می‌باشد بنابراین احتمالا وزن خشک ساقه مشارکت بیشتری در تنوع صفت وزن خشک برگ به ساقه داشته است (Rezaei et al. 2011).

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

صفات [*]	میانگین مربuat		دامنه
	میانگین	حداقل	
نوع			
۹۳/۹±۱۵/۹	۱۵۱	۳۵/۵	۹/۹۷
۱۳۴۵/۴	۵۱/۹	۱۲	۲۳/۹
۲۰۱/۳±۱۹/۲	۴۱۰	۸	۱۹/۱
۶۹/۱±۲۲/۴	۱۱۷	۴	۲۲/۴
۱۰۸/۹±۴۰/۲	۲۲۷	۴	۲۱/۶
۲۹/۷±۱۱/۳	۶۴	۳	۱۱/۳
۸۴/۸±۲۶/۹	۱۹۴	۴	۱۸/۷
۳۶/۳±۱۳/۴	۷۸	۱۵	۲۱/۷
۳۲۵±۱۱۰/۹	۴۳۰	۲۱۰	۱۳/۲
۲۰±۴/۲	۳۵	۱۲	۱۲/۱
۲۵۶/۷±۷۸/۱	۵۲۵	۳۵	۱۷/۱
۱/۱±۰/۶	۳	۰/۵	۳۲/۹
۰/۳۸±۰/۴۲	۰/۵	۰/۲۸	۶/۵
خطا			
۵۹۴/۸ ^{**}	۸۷/۷	۹/۹۷	۵۹۴/۸ ^{**}
۱۴۹/۸ ^{**}	۱۰/۲	۱۰/۲	۱۴۹/۸ ^{**}
۱۹۱۸/۵ ^{**}	۱۴۹/۹	۱۹/۱	۱۹۱۸/۵ ^{**}
۱۵۷۱/۵ ^{**}	۱۷۲/۶	۲۲/۴	۱۵۷۱/۵ ^{**}
۵۶۹۷/۲ ^{**}	۵۵۷/۹	۴۱/۶	۵۶۹۷/۲ ^{**}
۳۳۷۹/۳ ^{**}	۲۳۷۹/۳ ^{**}	۲۳۷۹/۳ ^{**}	۳۳۷۹/۳ ^{**}
۱۱۵۷۲ ^{**}	۵۶۹۷/۲ ^{**}	۲۲/۴	۱۱۵۷۲ ^{**}
۷۴۱/۵ [*]	۴۴/۲	۱۱/۳	۷۴۱/۵ [*]
۴۵۴۸/۵ ^{**}	۲۵۰/۷	۱۸/۷	۴۵۴۸/۵ ^{**}
۶۸۱/۹ ^{**}	۶۲/۴	۲۱/۷	۶۸۱/۹ ^{**}
۳۱۱۸/۵ ^{**}	۷۹۴/۱	۱۳/۲	۳۱۱۸/۵ ^{**}
۲۶۶/۹ ^{**}	۶/۳	۱۲/۱	۲۶۶/۹ ^{**}
۶۰۷۷/۶ ^{**}	۴۸۱/۸	۱۷/۱	۶۰۷۷/۶ ^{**}
۰/۱۲۳ ^{**}	۰/۱۰۷	۰/۱۰۷	۰/۱۲۳ ^{**}
۰/۶۳۸ ^{ns}	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰
۰/۰۱۶ ^{**}	۰/۰۰۳ ^{**}	۰/۰۰۳ ^{**}	۰/۰۱۶ ^{**}
T			

* و ** به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد. درجات آزادی تکرار، جمعیت و خطای به ترتیب ۲۰۱۰ و ۱۰۰۰.

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

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

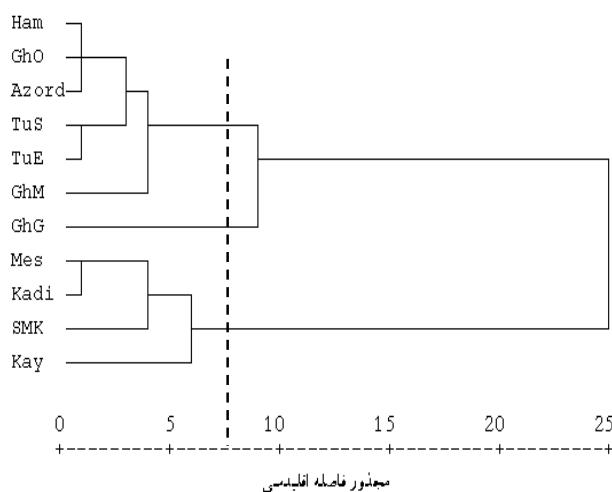
DT/WT	LD/SD	LN/SN	SN	LN	SD	SW	LD	LW	DT	WT	CN	H	صفات ^a						
												۱	H						
											۱	.۰۰۰۵	CN						
										۱	-۰/۱۹۸	.۰/۵۷**	WT						
									۱	.۰/۹۸**	-۰/۱۸۹	.۰/۵۹**	DT						
								۱	.۰/۹۵**	.۰/۹۸**	-۰/۲۲*	.۰/۵۱**	LW						
							۱	.۰/۸۵**	.۰/۹۶**	.۰/۹۴**	-۰/۳۳*	.۰/۴۹**	LD						
							۱	.۰/۸۸**	.۰/۹۱**	.۰/۹۶**	.۰/۹۷**	-۰/۱۵	.۰/۶۱**	SW					
							۱	.۰/۹۸**	.۰/۸۸**	.۰/۸۹**	.۰/۹۸**	-۰/۱۵	.۰/۶۴**	SD					
							۱	.۰/۵۱**	.۰/۶۲**	.۰/۶۸**	.۰/۶۳**	.۰/۶۷**	-۰/۲۷*	.۰/۳۴**	LN				
							۱	.۰/۷۱**	.۰/۵۱**	.۰/۵۷**	.۰/۵۱**	.۰/۵۵**	.۰/۰۳**	.۰/۵۸**	SN				
							۱	.۰/۴۳	.۰/۶۵**	.۰/۳۷**	.۰/۳۸**	.۰/۴۵**	.۰/۴۵**	.۰/۴۲**	LN/SN				
							۱	-۰/۰۷	-۰/۰۶	-۰/۰۵	-۰/۰۳۳**	.۰/۳**	-۰/۰۴	-۰/۱۱	-۰/۲۰	-۰/۰۷	-۰/۴۹**	LD/SD	
							۱	.۰/۲۰	-۰/۱۹	-۰/۲**	-۰/۳۱**	-۰/۱۰	-۰/۲۲*	-۰/۱۳	-۰/۰۳**	-۰/۱۲	-۰/۰۱	-۰/۱۳	DT/WT

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

^aارتفاع (H)، میزان کلروفیل (CN)، وزن تر کل (DT)، وزن خشک کل (LW)، وزن تر برگ (LD)، وزن خشک ساقه (SW)، وزن خشک ساقه (LD/SD)، تعداد برگ (SN)، تعداد ساقه (LN)، تعداد برگ به تعداد ساقه (LN/SN)، تعداد برگ به وزن خشک ساقه (SD)، وزن تر 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 تاثیر می‌پذیرفتند (نسبت وزن خشک برگ به ساقه، تعداد برگ) به عنوان مولفه کیفیت علوفه، و در نهایت متغیرهای میزان کلروفیل و ارتفاع بوته تاثیر می‌گذاشت. مولفه سوم ۱۰/۸ درصد از واریانس کل را توجیه کردند به عنوان مولفه طول دوره رویشی شناخته شدند. بر اساس نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی در مطالعه تنوع ژنتیکی ۸۱ اکوتیپ یونجه از نواحی مختلف ایران نیز سه مولفه اصلی استخراج گردید که این مولفه‌ها 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 معنی دار و منفی بود، بنابراین موثرترین جز بر روی کمیت علوفه، ارتفاع بوته و وزن ساقه است (Abd Mishani and Shahnejat Busherehi 1997). در حالیکه هر چه نسبت برگ به ساقه بیشتر شود، کیفیت پروتئین علوفه بالاتر می‌رود نسبت برگ به ساقه تحت تاثیر زمان برداشت قرار دارد، طوریکه 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، تاثیر بیشتری در تغییرات عملکرد علوفه تر دارند. قبل اشاره شده است که زمان برداشت اثر معنی داری بر تغییرات نسبت برگ به ساقه دارد و تأخیر 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، (Azord) آذربایجان اردوبار، (TuS) ترکیه ساکوئل، (TuE) ترکیه Elgi، (GhM) گروه Elgi، (Mes) محلی اصفهانی، (Kadi) کردی، (SMK) سیمیرجنسکیا، (Kay) کریساری).

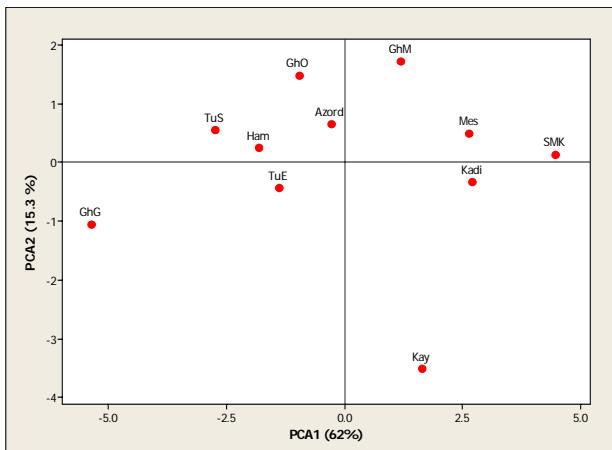
محدودی از این جمعیت‌ها با نشانگرهای IRAP و REMAP گزارش شده که گروه‌بندی جمعیت‌ها با منشا جغرافیایی آنها مطابقت ندارد و تمایز پایینی بین جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارد (Abdollahi et al. 2012 Abdollahi 2012). همچنین در ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های یونجه ایرانی با نشانگرهای EST-SSR بیان شده که احتمالاً تغییرات ژنتیکی جمعیت‌های یونجه با تنوع مبدأ 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 مرتب 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 کندي، ترکیه ساکوئل و Elgi، همدانی و آذربایجان اردوبار قرار گرفتند و جمعیت‌های محلی اصفهانی، کردی، کریساری و سیمیرجنسکیا در کلاستر دوم گروه‌بندی شدند. جمعیت‌هایی با منشا و صفات مورفوЛОژیک 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 ۳	مولفه ۲	مولفه ۱
ارتفاع	۰/۳۶۰	-۰/۴۷۰	۰/۶۹۳
میزان کلروفیل	۰/۷۸۲	-۰/۰۸۷	-۰/۲۵۴
وزن تر کل	۰/۰۰۵	-۰/۰۳۱	۰/۹۹۰
وزن خشک کل	۰/۰۳۱	-۰/۱۲۴	۰/۹۷۸
وزن تر برگ	۰/۰۳۲	۰/۰۷۸	۰/۹۸۱
وزن خشک برگ	۰/۰۸۲	۰/۰۳۵	۰/۹۶۰
وزن تر ساقه	-۰/۰۲۷	-۰/۱۶۰	۰/۹۷۸
وزن خشک ساقه	-۰/۰۰۸	-۰/۲۵۶	۰/۹۵۹
تعداد برگ	-۰/۱۴۱	۰/۴۸۴	۰/۸۲۳
تعداد ساقه	-۰/۰۵۸۴	۰/۲۶۳	۰/۶۵۱
نسبت تعداد برگ به تعداد ساقه	۰/۴۸۳	۰/۴۳۰	۰/۶۸۶
نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه	۰/۱۳۶	۰/۸۰۹	-۰/۳۹۸
نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل	-۰/۱۸۸	-۰/۷۰۹	-۰/۳۰۲
درصد واریانس	۱۰/۸	۱۵/۳	۶۲
واریانس تجمعی	۸۸/۱	۷۷/۳	۶۲

مسلم استفاده از نشانگرها ملکولی مختلف همراه با نشانگرها مورفولوژیک جهت شناسایی چنین تنوعی در ژرم پلاسم یونجه‌های مطالعه شده بطور موثر و کارتری می‌توانند 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 نشانگرها ملکولی در حال بررسی است تا با تلفیق داده‌های حاصل از این مطالعه با داده‌های حاصل از نشانگرها 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، قره یونجه ارومیه، Aord) آذربایجان اردبیل، (TuS) ترکیه ساکوئل، (TuE) ترکیه Elgi، (GhM) قره یونجه ملک کنی، (GhG) قره یونجه قارلقوق، (Mes) محلی اصفهانی، (Kadi) کدی، (SMK) سیمیرجنس کایا، (Kay) کریساری).

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 Ward

صفات	کلاستر ۱	کلاستر ۲
ارتفاع	101.9 ± 19.5	79.9 ± 14.9
میزان کلروفیل	14 ± 8.1	11 ± 7.3
وزن تر کل	284.9 ± 77.2	118.2 ± 60.1
وزن خشک کل	83.6 ± 25	43.8 ± 17
وزن تر برگ	134 ± 46	65.2 ± 34.1
وزن خشک برگ	36 ± 11.5	18.6 ± 8.1
وزن تر ساقه	103.3 ± 45.2	52.3 ± 27.5
وزن خشک ساقه	45.9 ± 13.3	19.5 ± 10.3
تعداد برگ	310 ± 65.6	275 ± 52.6
تعداد ساقه	23 ± 9.7	15 ± 7.4
نسبت تعداد برگ به تعداد ساقه	486.2 ± 147.8	270.3 ± 77
نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه	0.98 ± 0.15	1.2 ± 0.6
نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل	0.37 ± 0.03	0.4 ± 0.06

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

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، تنوع ژنتیکی گسترهای 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).