Archive of SID

"مجله علوم زراعی ایران"
جلد بیستم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷

شناسایی دورگ‌های برتر کیفی در نسل دوم خودباروری در یونجه (*Medicago sativa* L.) با استفاده از تجزیه GGE بای‌پلات

Identification of qualitative superior hybrids based on second selfing generation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) using GGE-Biplot analysis

ویدا قطبی[۱]، فرهاد عزیزی[۲]، محمد جواد زمانی[۳]، علی مقدم[۴] و افشین روزبهانی[۵]

چکیده

قطبی، و.، ف. عزیزی، م. ج. زمانی، ع. مقدم و ا. روزبهانی . ۱۳۹۷. شناسایی دورگ‌های برتر کیفی در نسل دوم خودباروری در یونجه (*Medicago sativa* L.) با استفاده از تجزیه GGE بای‌پلات. **مجله علوم زراعی ایران. ۲۰(۳): ۲۶۶-۲۵۲.**

بهبود کیفیت علوفه به منظور دستیابی به ارقامی با ارزش غذایی بالاتر، یکی از اهداف اصلی در به‌نژادی یونجه محسوب می‌شود. هدف از این آزمایش ارزیابی ترکیب‌پذیری و هتروزیس برای صفات کیفیت علوفه شامل؛ نسبت برگ به ساقه، میزان پروتئین خام، میزان کربوهیدرات‌های محلول، خاکستر، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در اینبردهای جزئی انتخاب شده از نسل دوم خودباروری هشت اکوتیپ یونجه بود که در قالب یک طرح تلاقی نیمه دی‌آلل اجرا شد. بذرهای ۲۸ دورگ نسل F1 همراه با والدین در دو مکان (کرج و اراک) کشت و به مدت دو سال (۱۳۹۴و ۱۳۹۵) مورد ارزیابی قرار گرفته و از روش گرافیکی GGE biplot برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل استفاده شد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس گریفینگ، میانگین مربعات ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی، برهم‌کنش ترکیب‌پذیری خصوصی با محیط برای کلیه صفات گیاهی در سطح احتمال یک درصد و برهم‌کنش ترکیب‌پذیری عمومی با محیط برای نسبت برگ به ساقه (در سطح احتمال پنج درصد)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خنثی (در سطح احتمال یک درصد) معنی‌دار بودند. روش گرافیکی GGE biplot نشان داد که والد سیلوانا دارای بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و والد کوزره و رهنانی دارای بیشترین مقدار ترکیب‌پذیری عمومی منفی برای نسبت برگ به ساقه، میزان پروتئین، میزان کربوهیدرات‌های محلول و خاکستر بودند و برای الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خنثی والد نیک شهری بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی مثبت را داشتند. ترکیب‌پذیری خصوصی ناشی از دو والد خاص، قهاوند با سیلوانا برای کلیه صفات مطلوب بیشترین مقدار را داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که در بین والدین مورد ارزیابی، تنوع و هتروزیس کافی برای بهبود کیفیت علوفه وجود دارد، بنابراین امکان استفاده از خودباروری و تلاقی بین اینبردهای جزئی منتخب (S2) جهت بهره‌برداری از پدیده هتروزیس برای ارتقای کیفیت علوفه در یونجه، از طریق تلاقی بهترین سینگل کراس‌ها و تولید هیبریدهای دوگانه با تولید هیبریدهای آزاد وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: بای‌پلات، ترکیب‌پذیری عمومی، ترکیب‌پذیری خصوصی، دی‌آلل، کیفیت علوفه و یونجه.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۰ /۱۳۹۷/۰۵ این مقاله مستخرج از پروژه تحقیقاتی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به شماره مصوب ۰-۰۳-۰۳-۹۲۱۹۵ و شماره فروست ۵۴۴۰۲ می‌باشد

۱- استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران (مکاتبه کننده)
(پست الکترونیک: v.ghotbi@areoo.ac.ir)
۲- استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۳- استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۴- استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج ایران
۵- محقق موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اراک، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یونجه (*Medicago sativa* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای با عملکرد و ارزش تغذیه‌ای بالا در جهان محسوب می‌شود. یونجه از ناحیه قفقاز، شمال غرب ایران، ترکمنستان و شمال شرق ترکیه منشاء گرفته (Michaud *et al*., 1988) و یکی از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای در ایران بشمار می‌رود. توده‌های محلی مشهوری از یونجه که اکوتیپ محسوب می‌شوند، با خصوصیات زراعی و فیزیولوژی متفاوت در نواحی سرد تا معتدل و گرم ایران وجود داشته و سطح زیر کشت آنها حدود ۶۰۰۰۰۰ هکتار است (Anonymous, 2015). هدف اصلی برنامه‌های اصلاحی یونجه افزایش عملکرد ماده خشک، پایداری (ماندگاری) و کیفیت علوفه است.. با توجه به اینکه تنوع ژنتیکی زیادی از نظر قابلیت هضم و سایر صفات کیفیت علوفه در یونجه گزارش شده است، تلاش‌های زیادی توسط به‌نژادگران برای بهبود قابلیت هضم و ارزش تغذیه‌ای نیز انجام شده است، هرچند اطلاعات محدودی در زمینه وارثت‌پذیری کیفیت علوفه یونجه در دسترس است (Guines *et al*., 2002). بهبود کیفیت علوفه می‌تواند از طریق اصلاح بعضی از خصوصیات مورفولوژیک تحقق یابد. صفات مرتبط با کیفیت علوفه مثل ماده خشک قابل هضم، میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب، پروتئین خام و میزان الیاف اولویت بیشتری در تغذیه دام برای افزایش وزن یا تولید شیر دارند (Smith *et al*., 1997). همبستگی ژنتیکی بین قابلیت هضم و میزان الیاف منفی و همبستگی میزان پروتئین با قابلیت هضم مثبت و معنی‌دار است (Riday and Brummer, 2004). بعلاوه همبستگی مثبتی بین نسبت برگ به ساقه و کیفیت علوفه در یونجه گزارش شده است (Hayek *et al*., 2008). در یونجه برگ‌ها خوشخوراک‌تر بوده و قابلیت هضم بالاتری نسبت به ساقه دارند. بعلاوه میزان پروتئین و الیاف نیز تابع تعداد و ابعاد برگ‌ها است، بنابراین زیاد بودن نسبت برگ به ساقه یک صفت مطلوب بوده و با کاهش ارتفاع بوته، میزان کل ماده خشک گیاه کاهش می‌یابد، ولی برگ‌های بیشتری تولید شده وکیفیت علوفه افزایش می‌یابد. میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) مهم‌ترین عامل محدود کننده جذب علوفه بقولات توسط نشخوارکنندگان گزارش شده (Van Soest, 1995) و بنابراین یک جزء کلیدی در انبارداری یونجه برداشت شده برای تغذیه دام محسوب می‌شود. الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) اغلب برای برآورد انرژی قابل هضم در یونجه و شبدر استفاده می‌شود (Albrecht and Beauchemin, 2003). انتخاب برای پروتئین بیشتر یا کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، برای قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک (IVDMD) در برنامه‌های به‌نژادی برای بهبود ارزش غذایی یونجه توصیه شده است. عاملی که باید به آن در برنامه‌های به‌نژادی توجه نمود این است که افزایش عملکرد در جمعیت‌های اصلاح شده مثل جمعیت‌های نیمه هیبرید یا هیبریدهای آزاد می‌توانند روی کیفیت علوفه اثر بگذارد. نتایج تحقیقات نشان داده است که تنوع ژنتیکی در میزان الیاف و پروتئین عامل اصلی تنوع در کیفیت علوفه هستند (Julier and Huyghe, 1997)، اگرچه عادت رشدی گیاه، رسیدگی و مدیریت مزرعه نیز روی ارزش کیفی علوفه تاثیرگذار هستند (Riday *et al*., 2002). به دلیل رابطه منفی بین قابلیت هضم و عملکرد علوفه، شناسایی و اصلاح ارقام با عملکرد و قابلیت هضم بالا دشوار است (Julier and Huyghe, 1997).

یکی از موانع استفاده از هتروزیس در یونجه اتوتتراپلوئید، ساختار ژنتیکی پیچیده آن است.. موفقیت در تولید ارقام یونجه بستگی به روش به‌نژادی مورد استفاده دارد. برومر (Brummer, 1999) گزارش کرد که با استفاده از روش تولید نیمه‌هیبریدها از طریق تلاقی بین جمعیت‌ها و دستیابی به هتروزیس طبیعی

www.SID.ir

Archive of SID

می‌توان عملکرد یونجه را افزایش داد. هیل و بارنز (Hill and Barnes, 1977) برای صفات کیفی علوفه یونجه، وارثت‌پذیری عمومی نسبتا بزرگی برای میزان لیگنین و پروتئین گزارش کردند، ولی برآورد وارثت‌پذیری عمومی بسیار پائینی برای قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک وبرآورد متوسطی برای ADF و NDF گزارش کردند. در بسیاری از آزمایش‌ها امکان استفاده از اثرات افزایشی وغیرافزایشی شامل برهم‌کنش ژن‌های مکمل مرتبط با توارث پلی‌سومیک برای بهبود عملکرد در یونجه اتوتتراپلوئید گزارش شده است (Al Lawati *et al*., 2010; Milic´ *et al*., 2010) ایده استفاده از هتروزیس در یونجه با تولید نیمه هیبریدها از طریق تشخیص گروه‌های هتروتیک و تلاقی ژرم‌پلاسم‌های مختلف و غیر خویشاوند پیشنهاد شده است (Brummer 1999; Riday and Brummer, 2002). اثرات ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) و خصوصی (SCA) با مقادیر GCA بزرگتر برای نسبت برگ در عملکرد و میزان پروتئین و ارتفاع گیاه تعیین شده است (Guines *et al*., 2002). در تجزیه دی‌آلل در سایر آزمایش‌ها، GCA معنی‌داری برای ADF، LSR و میزان پروتئین گزارش شده است که بطور عمده نشان‌دهنده توارث افزایشی برای این صفات یونجه است (Hill and Barnes, 1977; Guines *et al.,* 2002). باکستن و کاسلر (Buxton and Casler, 1993) و ریدای و همکاران (Riday *et al*., 2002) این نظریه را که صفات کیفی علوفه اغلب بسیار پلی‌ژنیک و افزایشی هستند، تایید کردند، اگرچه متذکر شدند که اثرات غیرافزایشی نیز وجود دارد. عمل ژن غیر افزایشی برای صفات کیفیت علوفه را به این صورت می‌توان توضیح داد که اثرات جمع شونده چندین آلل غالب در بین جمعیت‌ها امکان ظهور پیدا می‌کنند (Riday and Brummer, 2002). از طرف دیگر، روتیلی و همکاران (Rotili *et al*., 1999) پیشنهاد کردند که از اثرات هتروزیس می‌توان تا حدودی (به صورت جزئی) از طریق هیبریدهای آزاد با تلاقی لاین‌های بدست آمده از دو تا سه نسل خودباروری استفاده کرد (Rotili *et al*., 1999; Carelli *et al*., 2006). آنها گزارش کردند که خودباروری همراه با گزینش، موثرترین روش برای تمرکز روی ساختار ژنتیکی شامل ژن‌های مطلوب و لینکات‌ها (مجموعه ژنی) برای امکان‌پذیرکردن بهبود ارزش به‌نژادی والدین است (Rotili *et al*., 1999). روتیلی (Rotili, 1976) گزارش کرد که با خودباروری همراه با گزینش، از طریق اثرات غیر افزایشی همراه با اثرات ترکیب‌پذیری عمومی می‌توان به حداکثر قدرت رویش (ویگور) گیاه رسید. استفاده از اینبردهای نسبی نسل دوم خودباروی برای بهبود عملکرد ماده خشک و سایر صفات برای بدست آوردن هیبریدهای ساده توسط اسکاتی و همکاران (Scotti *et al*., 2011) انجام شد و این هیبریدها، تا نسل Syn_3 همراه با انتخاب تکثیر شدند و بدین طریق والدین دبل‌کراس یا هیبریدهای آزاد را با چهار والد تشکیل دادند. قطبی و همکاران (Ghotbi *et al*., 2017) با ارزیابی اکوتیپ‌های یونجه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران در قالب تلاقی دی‌آلل یک طرفه گزارش نمودند که تلاقی اکوتیپ‌های منشا گرفته از مناطق مختلف ایران دارای ترکیب‌پذیری خصوصی و هتروزیس مثبت و معنی‌دار بیشتری برای عملکرد ماده خشک، ارتفاع بوته و نسبت برگ به ساقه بودند.

دانش ساختار ژنتیکی و نحوه توارث صفات مختلف به به‌نژادگران کمک می‌کند تا روش اصلاحی مناسبی را انتخاب کنند. روش‌های مختلفی برای برآورد شاخص‌های ژنتیکی استفاده می‌شود که تجزیه دی‌آلل با استفاده از روش گریفینگ یکی از مهم‌ترین روش‌ها است (Griffing 1956). یان و هانت (Yan and Hunt, 2002) یک روش ارزیابی سریع که GGE biplot نامیده می‌شود را برای ارزیابی داده‌های دی‌آلل معرفی کردند. این روش توانایی تحلیل و تفسیر تنوع فنوتیپی والدین و قابلیت‌های ترکیب عمومی،

www.SID.ir

Archive of SID

خصوصی و پیش‌بینی گروه‌های هتروتیک را بر اساس نمودار گرفیکی با استفاده از دو مولفه اصلی (PC_1 و PC_2) را افزایش می‌دهد. GGE biplot بطور وسیعی برای تعیین ترکیب‌پذیری عمومی و گروه‌های هتروتیک استفاده می شود. روش GGE biplot برای داده‌های آزمایشات چند محیطی توسعه یافته است که ژنوتیپ‌ها به عنوان ورودی (انتری) و محیط‌ها به عنوان محک‌ها (تسترها) هستند. بعلاوه روش GGE biplot نسبت به دی‌آلل مرسوم ارجحیت دارد، زیرا اثرات GCA و SCA جمعیت و برتری تلاقی‌ها و همین‌طور الگوی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها را به صورت توام نشان می‌دهد. در همین رابطه یان و هانت (Yan and Hunt, 2002)، با ارائهٔ روش نمودار دو وجهی برای تفسیر داده‌های مرتبط با روش دی‌آلل در مقاومت به بیماری سوختگی سنبلهٔ گندم (*Stagonospora nodorum*) و کرم ساقه خوار ذرت، روش استفاده و مدل‌های ریاضی آن را ارائه دادند.

با توجه به مزایای خودباروری و بازیابی هتروزیگوسیتی از طریق تلاقی بین کلون‌های برتر اینبردهای جزئی، در این تحقیق تجزیه و تحلیل دی آلل با استفاده از مدل GGE biplot برای بدست آوردن اطلاعات درباره روابط بین والدین، ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی و تشخیص ترکیبات هتروتیک برای صفات کیفی علوفه شامل نسبت برگ به ساقه، میزان پروتئین خام، کربوهیدرات‌های محلول، خاکستر، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی از طریق تلاقی هشت والد گزینش شده از نسل دوم خودبارروی اکوتیپ‌ها و ارقام مختلف یونجه انجام شد. نتایج این تحقیق در بهبود کیفیت علوفه از طریق بهترین تلاقی‌ها برای تولید ارقام هیبرید آزاد با خودباروری در یونجه قابل استفاده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق هشت اینبرد جزئی 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 رقم سکوئل (استرالیا) به صورت طرح نیمه دی‌آلل (یک طرفه) در شرایط گلخانه بدون اخته کردن با یکدیگر تلاقی داده شدند (پیشنهاد شده توسط روتیلی و همکاران (Rotili *et al*., 1999). خودباروری برای دو نسل به همراه گزینش بر اساس عملکرد ماده خشک و قدرت رویش (ویگور) برای اکوتیپ‌ها و ارقام در شرایط مزرعه در زیر قفس انجام گرفت و والدین برتر برای تلاقی از هر اکوتیپ انتخاب شدند. والدین به همراه ۲۸ نتاج F_1 در گلدان‌های قابل احیاء در اواخر تابستان ۱۳۹۳ در گلخانه کشت شدند و سپس گیاهچه‌ها در اوایل پاییز ۱۳۹۳ به مزرعه آزمایشی در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر- کرج و اراک منتقل شدند. 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 آبیاری گردید و آبیاری‌های بعدی هر هفت روز یکبار انجام شد. تجزیه واریانس نیمه دی‌آلل بر پایهٔ طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بر مبنای روش دو (II) گریفینگ (Griffing, 1956) و با استفاده از برنامهٔ SAS(Zhang *et al*. 2005) برای صفات کیفی علوفه شامل، نسبت برگ به ساقه (LSR)، پروتئین خام (CP)، کربوهیدرات‌های محلول در آب (WSC)، خاکستر، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) در بهار و تابستان ۱۳۹۴-۱۳۹۵ برای هر مکان و هر سال انجام شد. هر چین در مرحله ۲۰ درصد گل‌دهی انجام شد (سه چین در هر سال و هر مکان برای تجزیه کیفیت علوفه مورد استفاده قرار گرفت). برای اندازه‌گیری نسبت برگ به

www.SID.ir

Archive of SID

ساقه، برگ‌ها از ۲۰ بوته برداشت شده از هر کرت به صورت جداگانه توزین شدند. نمونه‌های برگ و ساقه در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشکانده و سپس آسیاب و در کیسه‌های پلاستیکی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های آسیاب شده با استفاده از دستگاه NIR (Near-Infrared Reflectance Spectroscopy) (DICKEY-John -United States Instalab®) تجزیه شدند. میانگین سه چین در هر سال و در هر مکان برای صفات کیفیت علوفه در سه تکرار برای هر سال در تجزیه مرکب دو سال و دو مکان تجزیه شدند. ژنوتیپ به عنوان فاکتور ثابت و تکرار و محیط (دو سال و دو مکان)، به عنوان فاکتور تصادفی در نظر گرفته شدند.

ابتدا نرمال‌بودن خطاهای آزمایشی با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و همگن بودن واریانس‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 آزمون شدند (SAS, 2008). تجزیه واریانس دی‌آلل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بر مبنای روش دو (II) گریفینگ (Grifing, 1954) و با استفاده از برنامه SAS، زانگ و کانگ (Zhang and Kang, 1997) انجام شد. از روش GGE بای‌پلات برای تجزیه داده‌های دی‌آلل که بر اساس تجزیه به مقادیر منفرد (Singular Value Decomposition) به صورت زیر استفاده شد: در GGE biplot، میانگین و پایداری ژنوتیپ‌ها به GCA و SCA والدین اشاره می‌کند. مقادیر میانگین برای هیبریدها و جمعیت‌های والدی بین محیط‌ها (دو مکان و دو سال آزمایش) برای تشکیل ماتریس داده‌های دی‌آلل استفاده شد. در تلاقی‌های دی‌آلل، یک والد هم انتری و هم تستر است (جزئیات روش توسط یان و هانت (Yan and Hunt, 2002) و یان و کانگ (Yan and Kang, 2003) شرح داده شده است. این آنالیز با استفاده از نرم افزار (biplot GGE) انجام شد. برای استخراج دو مولفه اصلی (PC_1 و PC_2) شرح داده شده است). هر جمعیت با یک ردیف و یا یک ستون داده‌ها، بعد از بدست آوردن دو مولفه اصلی از داده‌های تنظیم شده، مرتبط است. مدل مورد استفاده برای تجزیه داده‌ها در رابطه (۱) شرح داده شده است. (رابطه ۱)

$$Y_{ij}\ Y_{ii} - \beta_i = \lambda_1\varepsilon_{i1}\eta_{i1} + \lambda_2\varepsilon_{i2}\eta_{i2} + \varepsilon_{ii}$$

$Y_{ij}\ Y_{ii}$: مقادیر ژنوتیپی ترکیبات بین انتری i و محک j برای یک صفت، β_j: میانگین مقادیر تمام ترکیبات با محک j، λ_1 و λ_2: مقادیر منفرد برای PC_1 و PC_2، ε_{i1} و ε_{i2}: به ترتیب بردار ویژه PC_1 و PC_2 برای انتری i، η_{j1} و η_{j2}: به ترتیب مقادیر ویژه PC_1 و PC_2 برای ژنوتیپ محک j و ε_{ij}: باقیمانده مدل برای انتری i و محک j هستند.

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، نشان دهنده مقدار مثبت ترکیب‌پذیری عمومی است. با توجه به اینکه اثر ترکیب‌پذیری عمومی و ترکیب‌پذیری خصوصی متعامد (اورتوگونال) هستند، فاصله ژنوتیپ‌ها با محور افقی مختصات ژنوتیپ محک متوسط نشان دهنده ترکیب‌پذیری خصوصی برای ژنوتیپ‌های مختلف است (Yan and Hunt, 2002; Yan and Kang, 2003).

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

www.SID.ir

Archive of SID

بای‌پلات شروع شده و بای‌پلات را به چند ناحیه تقسیم می‌نماید (Yan *et al.*, 2000).

نتایج و بحث

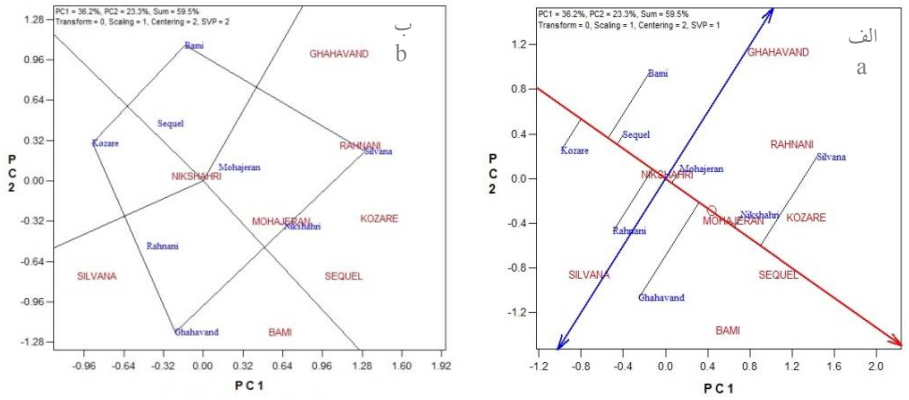
بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب تلاقی‌های دی‌آلل بر اساس روش ۲ گریفینگ، اختلاف معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) بین ژنوتیپ‌ها و ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی برای صفات مورد بررسی وجود داشت، بنابراین امکان ارزیابی ژنتیکی نتایج حاصل از تلاقی دی‌آلل یک طرفه برای بررسی ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی فراهم بود (نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌خطاها برای صفات مورد بررسی تایید شد). تجزیه اسپلیت‌پلات در زمان برای پی‌بردن به اثرات چین و برهم‌کنش چین در رقم برای هر مکان و هر سال معنی‌دار نبود، بنابراین از میانگین سه برداشت در هر سال برای تجزیه دی‌آلل استفاده شد. اثر شرایط محیطی (سال و مکان) برای کلیه صفات کیفی، به جز کربوهیدرات‌های محلول و برهمکنش ترکیب‌پذیری خصوصی در محیط برای کلیه صفات و ترکیب‌پذیری عمومی در محیط برای صفات نسبت برگ به ساقه (در سطح احتمال پنج درصد) و ADF و NDF (درسطح احتمال یک درصد) معنی‌دار بود. واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها در دو مکان و سال آزمایش می‌تواند به دلیل عوامل متفاوت اقلیمی باشد و گیاهان در سال دوم آزمایش استقرار بیشتری یافته و عملکرد بیشتری داشتند. اثر شرایط محیطی روی ژنوتیپ‌ها برای صفات عملکرد و اجزای عملکرد در یونجه توسط ملیچ و همکاران (Milić *et al.*, 2011) نیز گزارش شده است.

نمودارهای دو بعدی داده‌های دی‌آلل برای صفات کیفیت علوفه برای اینبرد لاین‌های جزئی یونجه بر اساس میانگین داده‌های دو سال و دو مکان ارائه شده است (شکل‌های ۵-۱). در این شکل‌های ارائه شده، حروف کوچک موقعیت ارقام یا لاین‌های اینبرد جزئی و حروف بزرگ موقعیت محک‌ها را نشان می‌دهند. در این روش هر ژنوتیپ یا والد هم به عنوان لاین و هم به عنوان محک در نظر گرفته می‌شود (Yan *et al.*, 2000). نمودار دو بعدی رسم شده برای نسبت برگ به ساقه ۵۹/۵ درصد از واریانس داده‌ها را توجیه می‌کند (شکل ۱ الف و ب). با استفاده از موقعیت میانگین محک‌ها می‌توان ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی ژنوتیپ‌ها را تعیین کرد. برای این 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 سیلوانا > نیک‌شهری> قهاوند> مهاجران> رهنانی > سکوئل> 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 سیلوانا، قهاوند، رهنانی، بمی، کوزره، سکوئل و رهنانی به ترتیب دارای ترکیب‌پذیری خصوصی بالاتری نسبت به بقیه هستند. در این شکل‌ها محور میانگین محک‌ها، 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 قهاوند، رهنانی و کوزره و گروه دوم شامل بمی و سیلوانا، نیک‌شهری هستند.

نمایش نمودار چند ضلعی (شکل ۲- الف) روش بسیار مناسبی برای بررسی الگوها و تفسیر اثر متقابل بین ژنوتیپ‌ها و محک‌ها است. این چند وجهی از طریق وصل کردن ژنوتیپ‌هایی حاصل می‌شود که بیشترین

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آلل برای نسبت برگ به ساقه هشت اینبرد جزئی یونجه. الف: نمایش موقعیت لاین‌ها، محک‌ها و میانگین محک‌ها. ب: نمایش چند وجهی و موقعیت لاین‌ها و محک‌ها. حروف کوچک نشان دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها هستند. موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است.

Fig. 1. The GGE Biplot based on eight partially inbred line of alfalfa for leaf to stem ratio. A: Average tester coordinates (ATC) view of the lines and testers. B: Polygon view of bi-plot for the lines (small letters) and testers (capital letters) position. Circles shows the position of testers'.

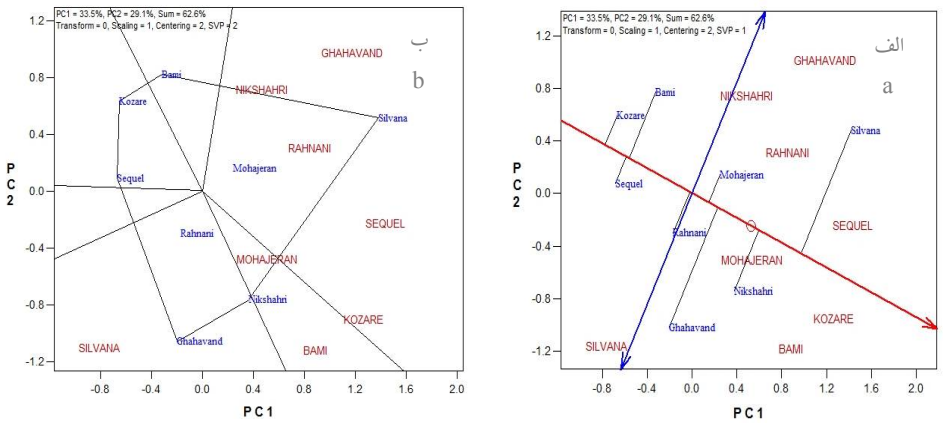
فاصله را از مبدا مختصات دارند، به‌طوریکه سایر لاین‌ها داخل این چند وجهی قرار گیرند. از مبدا بر هر ضلع چند وجهی یا ادامه آن خطی عمود می‌شود و شکل را به چند بخش تقسیم می‌کند. به این ترتیب هر لاین و هر محک ناگزیر داخل یکی از این بخش‌ها قرار می‌گیرد. ویژگی جالب توجه این چند وجهی این است که هر محک در همان 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 محسوب می‌شوند. لاین‌هایی که نزدیک مبدا قرار می‌گیرند، ترکیب‌پذیری ضعیفی با تمام محک‌ها دارند و به عوض شدن محک واکنش زیادی نشان نمی‌دهند. اینبرد لاین جزئی سیلوانا و محک‌های قهاوند رهنانی، کوزره و مهاجران در یک بخش قرار گرفتند، بنابراین ترکیب‌پذیری خوبی برای نسبت برگ به ساقه با هم دارند. همچنین لاین اینبرد جزئی قهاوند با محک‌های بمی و سیلوانا در یک بخش دیگر قرار گرفتند و نشان‌دهنده ترکیب پذیری خوب این دو لاین با یکدیگر است. با توجه به اینکه لاین سیلوانا با محک قهاوند در یک بخش قرار گرفتند و بر عکس (لاین قهاوند نیز با محک سیلوانا در یک بخش دیگر با هم قرار دارند)، نشان می‌دهد که این اینبردها از ترکیب‌پذیری بسیار زیادی برخوردارند و هیبرید آنها هتروتیک است. برای اینبردهای رهنانی و سیلوانا نیز تا حدی چنین وضعیتی مشاهده شد. اینبرد جزئی مهاجران در نزدیک مبدا قرار گرفت، بنابراین ترکیب‌پذیری ضعیفی با تمام محک‌ها نشان داده و در واقع به عوض شدن محک واکنش زیادی نشان نمی‌دهد. اینبرد لاین‌های بمی، سکوئل و کوزره در بخش‌هایی که قرار داشتند، محک‌های آن‌ها در بخش دیگری قرار داشتند. این موضوع نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری پایین این ارقام با هم است و نشان می‌دهد که نمی‌توانند به عنوان والدین مورد استفاده قرار گیرند (شکل ۱- ب).

www.SID.ir

Archive of SID

نمودار دوبعدی داده‌های دی‌آلل برای درصد پروتئین خام برای اینبرد لاین‌های جزئی یونجه مورد بررسی بر اساس میانگین داده‌های دو سال و دو مکان در شکل ۲ ارائه شده است. نمودار GGE بای‌پلات ۶۲/۶ درصد از واریانس داده‌ها را توجیه می‌کند (شکل ۲- الف و ب). بر اساس شکل ۲- الف، ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی ژنوتیپ‌ها برای میزان پروتئین خام علوفه به‌ترتیب به صورت؛ سیلوانا > نیک‌شهری > قهاوند > مهاجران > رهنانی> سکوئل>بمی > کوزره بود. همچنین لاین‌های اینبرد جزئی سیلوانا و قهاوند ترکیب‌پذیری خصوصی بالاتری نسبت به سایر ارقام داشتند. همچنین گروه‌های هتروتیک در این شکل به صورت قهاوند، نیک‌شهری، رهنانی، سکوئل و گروه دوم شامل مهاجران، کوزره، بمی و سیلوانا بود. با توجه به شکل ۲- الف، ژنوتیپ نیک‌شهری به عنوان بهترین محک شناخته شد. نمایش چند وجهی نمودار دو بعدی برای میزان پروتئین خام در شکل ۲- ب نشان می‌دهد که اینبرد لاین‌های جزئی سیلوانا و محک قهاوند، نیک‌شهری، رهنانی، سکوئل و کوزره در یک بخش قرار گرفتند، بنابراین، سیلوانا با این محک‌ها ترکیب‌پذیری خوبی داشت، هم‌چنین قرار گرفتن لاین قهاوند با محک سیلوانا در بخش دیگر، نشان دهنده ترکیب‌پذیری بسیار زیاد این اینبردها و هتروتیک بودن هیبرید آن‌ها است. اینبرد نیک‌شهری با محک مهاجران و بمی در یک بخش قرار گرفته و ترکیب‌پذیری خوبی را نشان دادند. ژنوتیپ‌های مهاجران و رهنانی در نزدیکی مرکز قرار گرفتند که نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری ضعیف آن‌ها با تمام محک‌ها است. اینبرد لاین‌های بمی، کوزره و سکوئل هر کدام در راس یک بخش قرار داشتند و محک‌های آن‌ها در بخش‌های دیگری قرار داشتند که ترکیب‌پذیری پائین این اینبردها را نشان می‌دهد (شکل ۲- ب).

نمودار بای‌پلات مربوط به میزان کربوهیدرات‌های محلول ۵۹/۲ درصد از واریانس داده‌ها را توجیه می‌کند (شکل ۳- الف و ب). برای این صفت ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی به صورت؛ سیلوانا > قهاوند> مهاجران > نیک‌شهری> رهنانی>



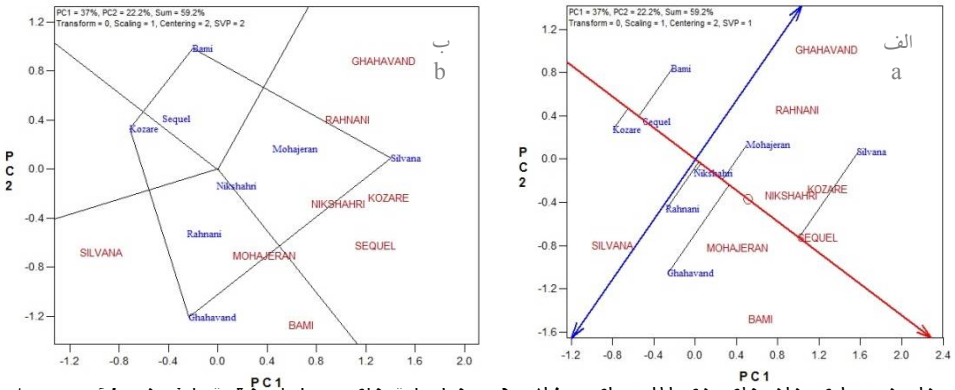
شکل ۲- نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آلل برای میزان پروتئین خام هشت اینبرد جزئی یونجه. الف: نمایش موقعیت لاین‌ها، محک‌ها و میانگین محک‌ها. ب: نمایش چند وجهی و موقعیت لاین‌ها و محک‌ها. حروف کوچک نشان دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها هستند. موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است

Fig. 2. The GGE Biplot based on eight partially inbred line of alfalfa for crude protein (%). A: Average tester coordinates (ATC) view of the lines and testers. B: Polygon view of bi-plot for the lines (small letters) and testers (capital letters) position. Circles shows the position of testers'.

www.SID.ir

Archive of SID

سکوئل> بمی > کوزره بود، یعنی سیلوانا بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی و مثبت را داشت. بهترین لاین‌های اینبرد از نظر ترکیب‌پذیری خصوصی نیز به ترتیب اکوتیپ‌های سیلوانا، قهاوند، بمی، رهنانی، مهاجران، کوزره، نیک‌شهری و سکوئل بودند (شکل ۳- الف). از نظر میزان کربوهیدرات‌های محلول، با توجه به محور میانگین محک‌ها دو گروه هتروتیک وجود داشت، گروه اول شامل قهاوند، نیک‌شهری، رهنانی، سکوئل و کوزره و گروه دوم شامل مهاجران، بمی و سیلوانا بودند. محک نیک‌شهری به‌عنوان بهترین محک برای میزان کربوهیدرات‌های محلول شناخته شد (شکل ۳- الف). بر اساس نمایش چند وجهی نمودار دو بعدی (شکل ۳-ب)، اینبرد لاین جزئی سیلوانا و محک‌های قهاوند، نیک‌شهری، رهنانی، سکوئل، کوزره در یک بخش قرار گرفتند که نشان می‌دهد سیلوانا با این محک‌ها دارای ترکیب‌پذیری خوبی است. از طرف‌دیگر، قرار گرفتن لاین قهاوند با محک سیلوانا در بخش دیگر، نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری بسیار زیاد و هتروتیک بودن هیبرید این دو اینبرد است. ترکیب‌پذیری خوبی نیز برای لاین قهاوند با محک‌های مهاجران و بمی (با توجه به در یک بخش قرار گرفتن آنها) مشاهده می‌شود. لاین نیک‌شهری در نزدیک مرکز قرار داشت،یعنی ترکیب‌پذیری ضعیفی با تمام محک‌ها دارد و به‌عوض شدن محک واکنش زیادی نشان نمی‌دهد. بعلاوه ترکیب‌پذیری پائینی برای اینبرد لاین‌های بمی و کوزره و سکوئل مشاهده شد، چون هر کدام در راس یک بخش قرار داشتند و محک‌های آن‌ها در بخش‌های دیگری بودند.



شکل ۳- نمودار دو بعدی داده‌های دی آلل برای میزان کربوهیدرات‌های محلول هشت اینبرد جزئی یونجه. الف: نمایش موقعیت لاین‌ها، محک‌ها و میانگین محک‌ها. ب: نمایش چند وجهی و موقعیت لاین‌ها و محک‌ها. حروف کوچک نشان دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها هستند. موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است.

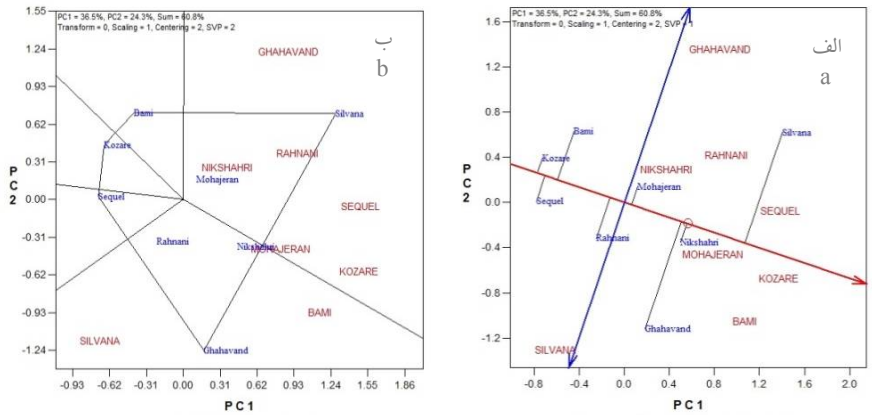
Fig. 3. The GGE Biplot based on eight partially inbred line of alfalfa for WSC (%). A: Average tester coordinates (ATC) view of the lines and testers. B: Polygon view of bi-plot for the lines (small letters) and testers (capital letters) position. Circles shows the position of testers'.

نمودار دوبعدی داده‌های دی آلل برای میزان خاکستر علوفه برای اینبرد لاین‌های جزئی یونجه در شکل ۴ ارائه شده است. نمودار بای‌پلات ۶۰/۸ درصد از واریانس داده‌ها را توجیه می‌کند (شکل ۴- الف و ب). بر اساس شکل ۴- الف، ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی میزان خاکستر علوفه نشان می‌دهد که سیلوانا در جهت مثبت بردار، بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی و کوزره در جهت منفی بردار،کمترین ترکیب‌پذیری عمومی را دارند. رتبه والدین برای SCA به‌ترتیب سیلوانا ≈ قهاوند>بمی>

www.SID.ir

Archive of SID

رهنانی>سکوئل> مهاجران≈ نیک‌شهری≈ کوزره بود، بنابراین لاین‌های اینبرد جزئی سیلوانا و قهاوند دارای ترکیب‌پذیری خصوصی بالاتری نسبت به سایر ارقام داشتند. گروه اول هتروتیک مشخص شده در شکل به صورت قهاوند، نیک‌شهری، رهنانی و گروه دوم شامل مهاجران، کوزره، بمی و سیلوانا بود (شکل ۴- الف). از طرف دیگر، نمایش چند وجهی نمودار دو بعدی نیز برای میزان خاکستردر شکل ۴- ب نشان می‌دهد که اینبرد لاین جزئی سیلوانا و محک قهاوند، نیک‌شهری، رهنانی، سکوئل و کوزره سیلوانا در یک بخش قرار گرفتند، یعنی سیلوانا با این محک‌ها ترکیب‌پذیری خوبی دارد. با توجه به اینکه در بخش دیگر لاین قهاوند با محک سیلوانا قرار گرفته، نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری بسیار زیاد هیبرید آن‌ها و هتروتیک بودن است. لاین قهاوند نیز با محک بمی دارای ترکیب‌پذیری خوبی با هم هستند. لاین‌های مهاجران و رهنانی در نزدیک مرکز قرار گرفتند و ترکیب‌پذیری ضعیفی با تمام محک‌ها دارند (شکل ۴- ب).



شکل ۴- نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آلل برای میزان خاکستر علوفه هشت اینبرد جزئی یونجه. الف: نمایش موقعیت لاین‌ها، محک‌ها و میانگین محک‌ها. ب: نمایش چند وجهی و موقعیت لاین‌ها و محک‌ها. حروف کوچک نشان دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها هستند. موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است.

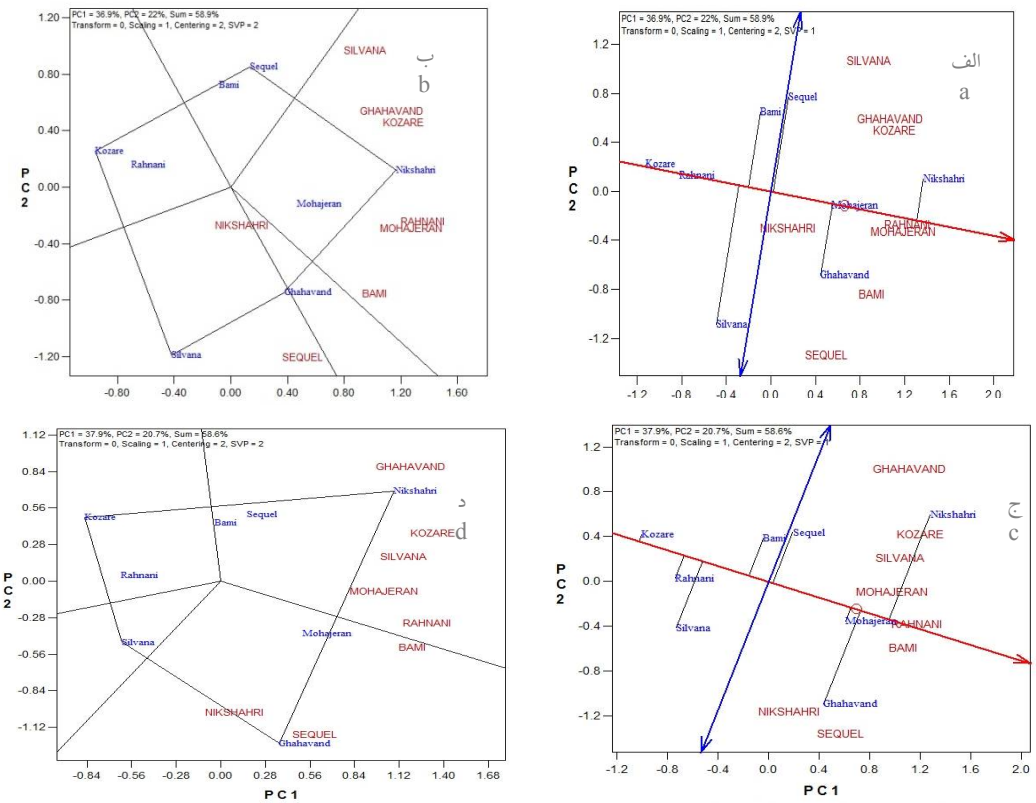
Fig. 4. The GGE Biplot based on eight partially inbred line of alfalfa for Ash (%). A: Average tester coordinates (ATC) view of the lines and testers. B: Polygon view of bi-plot for the lines (small letters) and testers (capital letters) position. Circles shows the position of testers'.

شکل بای‌پلات ۵- الف-د، به ترتیب ۵۸/۹ درصد و ۵۸/۶ درصد از واریانس داده‌های مربوط به الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) را توجیه می‌کند. برای این دو شاخص ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی به صورت نیک‌شهری > مهاجران≈ قهاوند > سکوئل>بمی>سیلوانا> رهنانی> کوزره است، بنابراین نیک‌شهری بیشترین ترکیب پذیری عمومی مثبت و معنی‌دار را برای هر دو شاخص ADF و NDF داشت. بهترین لاین‌های اینبرد از نظر ترکیب‌پذیری خصوصی برای اکوتیپ‌های سیلوانا > سکوئل>بمی> قهاوند > نیک‌شهری > رهنانی≈ مهاجران ≈ کوزره برای ADF و برای اکوتیپ‌های نیک‌شهری> قهاوند> سیلوانا > سکوئل> بمی> رهنانی> مهاجران> کوزره برای NDF مشاهده شد (شکل ۵ الف و ج). از نظر شاخص‌های ADF و NDF، با توجه به محور میانگین محک‌ها دو گروه هتروتیک وجود دارد. برای صفت میزان الیاف نامحلول در

www.SID.ir

Archive of SID

شوینده اسیدی، گروه اول سیلوانا قهاوند، کوزره و گروه دوم شامل مهاجران، بمی و نیک‌شهری، رهنانی، سکوئل و برای میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی، گروه اول شامل قهاوند، رهنانی، سیلوانا، کوزره و مهاجران و گروه دوم شامل بمی، سکوئل و نیک‌شهری بودند (شکل ۵ الف و ج). برای بررسی الگوها و تفسیر اثر متقابل بین ژنوتیپ‌ها و محک‌ها بر اساس نمایش چند وجهی نمودار دو بعدی برای ADF مشاهده شد که اینبرد لاین جزئی نیک‌شهری و محک‌های سیلوانا، قهاوند، کوزره رهنانی، مهاجران و بمی در یک بخش قرار گرفتند، یعنی لاین نیک‌شهری با این محک‌ها ترکیب‌پذیری خوبی دارد. همچنین ترکیب‌پذیری بالای لاین قهاوند با محک نیک‌شهری و هتروتیک بودن هیبرید آن‌ها مشاهده شد (شکل ۵- ب). اینبرد سیلوانا با محک سکوئل در یک بخش قرار گرفتند، یعنی این اینبرد لاین‌های جزئی دارای ترکیب‌پذیری خوبی با هم هستند. اینبرد لاین‌های بمی و کوزره، سکوئل و رهنانی هر کدام در راس یک بخش قرار گرفتند و محک‌های آن‌ها در بخش‌های دیگری بودند. این موضوع نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری پائین این اینبردها با هم است (شکل ۵- ب). نمایش چند وجهی نمودار برای NDF



شکل ۵- نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آلل برای میزان الیاف محلول در شوینده اسیدی (الف و ب) و میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی (ج و د) هشت اینبرد جزئی یونجه. الف و ج: نمایش موقعیت لاین‌ها، محک‌ها و میانگین محک‌ها. ب و د: نمایش چند وجهی و موقعیت لاین‌ها و محک‌ها. حروف کوچک نشان دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها هستند. موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است.

Fig. 5. The GGE Biplot based on eight partially inbred line of alfalfa for ADF (a and b) and NDF (c and d) (%). A: Average tester coordinates (ATC) view of the lines and testers. B: Polygon view of bi-plot for the lines (small letters) and testers (capital letters) position. Circles shows the position of testers'.

www.SID.ir

Archive of SID

نشان داد که اینبرد لاین جزئی نیک‌شهری و محک قهاوند، کوزره، رهنانی، مهاجران، سیلوانا در یک بخش قرار گرفتند، بنابراین نیک‌شهری با این محک‌ها ترکیب‌پذیری خوبی دارد. در بخش دیگر لاین قهاوند با محک نیک‌شهری قرار گرفتند، یعنی این دو اینبردها نیز از ترکیب‌پذیری بالایی برخوردار هستند و هیبرید این دو لاین اینبرد برای NDF هتروتیک است. در یک بخش قرار گرفتن دو اینبرد قهاوند با محک سکوئل نشان داد که این دو اینبرد جزئی دارای ترکیب‌پذیری خوبی با هم هستند (شکل ۵- د).

نتایج تجزیه دی‌آلل نشان داد که صفات کیفیی بررسی شده توسط عمل افزایشی ژن‌ها، از طریق افزایش تجمعی فروانی آلل‌های مطلوب کنترل می‌شوند و در نتیجه اثرات GCA معنی‌دار بود. اثرات غیر افزایشی ژن‌ها نیز از طریق برهم‌کنش ژن‌های مکمل ناشی از اثرات معنی‌دار SCA در کنترل ژنتیکی صفات نقش دارد. توجه به این نکته ضروری است که در گیاهان اتوتراپلوئید، GCA شامل هر دو اثرات افزایشی و غالبیت است. نتیجه این تحقیق نشان داد که ترکیب بین دو اینبرد برگرفته شده از یونجه‌هایی از مناطق آب و هوایی مختلف، هیبریدهای برتری را از صفات کیفی علوفه تولید کردند. نتایج تجزیه دی‌آلل در سایر تحقیقات نشان داده است که GCA برای ADF، نسبت برگ به ساقه و پروتئین توارث افزایشی داشته است (Hill and Barnes, 1977; Guines *et al*., 2002). ریدای و همکاران (Riday *et al.,* 2002) و همچنین بوکستن و کسلر (Buxton and Casler, 1993) نیز این فرضیه را تایید کردند که صفات کیفی علوفه اغلب پلی‌ژنیک و بسیار افزایشی هستند. در عین حال ملیچ و همکاران (Milić *et al.,* 2014) گزارش کردند که اگرچه برای اکثریت صفات بررسی شده، مقدار GCA بیشتر از SCA بود، اما حضور عمل ژن‌های غیر افزایشی نیز مشاهده شد. وجود عمل ژن‌های غیر افزایشی در صفات کیفی علوفه می‌تواند با اثرات تجمعی آلل‌های غالب متفاوت توضیح داده شود که در سطح بین جمعیت‌ها اجازه ظهور می‌یابد (Riday and Brummer, 2002). روتیلی و زانون (Rotili and Zannone, 1974) در خصوص عملکرد ماده خشک گزارش دادند که بزرگی واریانس برای اثرات ترکیب‌پذیری عمومی به‌طور قابل ملاحظه‌ای بزرگتر از اثرات ترکیب‌پذیری خصوصی بود، یعنی ترکیب‌پذیری عمومی همیشه بسیار معنی‌دار بود، در حالیکه ترکیب‌پذیری خصوصی در سطح S_0 و S_1 غیر معنی‌دار و در سطح S_2 معنی‌دار بود. در این تحقیق نیز مشابه نتایج روتیلی و زانون (Rotili and Zannone, 1974)، ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی معنی‌داری از تلاقی والدین نسل S_2 برای صفات کیفی علوفه به‌دست آمد. تفاوت‌ها در اثرات GCA و SCA بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌ها برای صفات کیفی علوفه یونجه در سایر تحقیقات نیز مشاهده شده است (Guines *et al*., 2002; Milić *et al*., 2011; Milić *et al*., 2014). اثرات SCA معنی‌داری در تلاقی‌های بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های مختلف ژنتیکی یونجه در تحقیقات زیادی گزارش شده است (Riday and Brummer, 2002; 2004; Al Lawati *et al*., 2010).

نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیب بین دو اینبرد نسبی از خانواده‌های نسل دوم خودباروری (S_2) از مناطق مختلف جغرافیایی، بهترین هیبریدها را از نظر LSR، CP و ASH داشتند، اما تلاقی‌هایی مثل قهاوند × مهاجران، قهاوند × سیلوانا، رهنانی × سیلوانا که از مناطق جغرافیایی مشابه هستند، از نظر کیفیت علوفه نیز اثرات هتروتیک داشتند. با توجه به اینکه اینبرد جزئی سیلوانا اثرات GCA معنی‌دار مثبتی برای LSR، CP و ASH داشت، به‌نظر می‌رسد که تلاقی با این اینبرد صفات کیفی مطلوب بالایی را بوجود می‌آورد. به‌دلیل همبستگی منفی این صفات مطلوب با ADF و NDF، هیبریدهای مطلوب از نظر صفات کیفی، کاهش چشمگیری از نظر ADF و NDF نداشتند. وجود اثرات هتروتیک معنی‌دار برای کیفیت علوفه امکان استفاده از

www.SID.ir

Archive of SID

خودباروری و تلاقی بین اینبردهای نسبی منتخب (S_2) را ثابت می‌کند. برای استفاده از این روش در تولید هیبریدهای آزاد، با تلاقی بهترین سینگل کراس‌ها و تولید هیبریدهای دابل، می‌توان به هتروزیس بیشتر و بهبود قدرت رویش (ویگور) و همچنین عملکرد علوفه همراه با کیفیت مورد انتظار علوفه رسید.

سپاسگزاری

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 جهت در اختیار قرار دادن گلخانه برای انجام تلاقی‌های مورد نیاز این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

References منابع مورد استفاده

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 Sci. 50: 150–158.

Albrecht, K. A. and K. A. Beauchemin. 2003. Alfalfa and other perennial legume silage, *In:* Buxton, D.R., Muck, R.E. and Harrison, J.H. (Eds.), Silage Science and Technology. Agron. Monog. pp. 633–664. Madison, WI, USA: ASA-CSSA-SSSA.

Anonymous. 2015. Agricultural Statistics Report. Vol. 1., Field Crops. Vol. 1. Statistics and IT Bureau. Ministry of Agriculture Jahad Press, Iran. (In Persian).

Brummer, E. C. 1999. Capturing heterosis in forage crop cultivar development. Crop Sci: 39: 943–954.

Buxton, D. R. and M. D. Casler. 1993. Environmental and genetic effects on cell wall composition and digestibility. *In:* Jung, H.G. (Ed.). Forage Cell Wall Structure and Digestibility. pp. 685-714. Madison, WI, USA: ASA-CSSA-SSSA.

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, 3-7 September. Perugia, Italy.

Ghotbi, V., H. Dehghani, R. Choucan and A. Moeini. **2017.** Determination of general and specific combining abilities for forage yield and agronomic traits in alfalfa (*Medicago sativa* L.) diallel crosses. Iran. J. Field Cop Sci. 48(3): 637-646. (In Persian with English abstract).

Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. Aust. J. Biol. Sci. 9: 463–493.

Guines, F., B. Julier, C. Ecalle and E.C. Huygh. 2002. Genetic control of quality traits of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Crop Pasture. Sci. 53: 401–407.

Hayek, T., M. Loumerem, K. Nagaz and M. Thabet. 2008. Growth development and dry matter yield of 16 alfalfa genotypes cultivated in south Tunisia. Options Méditerranéennes (Series A), 79: 299-302.

Hill, R. R. Jr. and R. F. Barnes. 1977. Genetic variability for chemical composition of alfalfa. II. Yield and traits associated with digestibility. Crop Sci. 17: 948–952.

www.SID.ir

Archive of SID

Julier, B. and C. Huyghe. 1997. Effect of growth and cultivar on alfalfa digestibility in a multi site trial. Agronomie, 17: 481-489.

Michaud, R., W. F. Lehman and 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. USA.

Milić, D., D. Karagić, S. Vasiljevic, A. Mikić, B. Miloševic and S. Katić. 2014. Breeding and improvement of quality traits in alfalfa (*Medicago sativa* ssp. *sativa* L.). Genetika. 46: (1) 11-18.

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.

Milić, D., S. Katić. A. Mikić and D. Karagić. 2010. Heterotic response from a diallel analysis between alfalfa cultivars of different geographic origin. *In:* Cristian, H. (Ed.) Sustainable use of genetic diversity in forage and turf breeding. 551–556 pp. Springer. New York.

Riday, H, E. C. Brummer. 2002. Heterosis of agronomic traits in alfalfa. Crop Sci. 42: 1081–1087.

Riday, H. and E.C. Brummer. 2004. Relationships among biomass yield components within and between subspecies of alfalfa. Medicago Genetic Reports, 4: 1-7.

Riday, H., E. C. Brummer and K. J. Moore. 2002. Heterosis of forage quality in alfalfa. Crop Sci. 42: 1088-1093.

Rotili, P. and L. Zannone. 1974. General and specific combining ability in alfalfa at different levels of inbreeding and performance of second generation synthetics measured in competitive conditions. Euphytica. 23: 569-577.

Rotili, P., G. Gnocchi, C. Scotti and L. Zannone. 1999. Some aspects of breeding methodology in alfalfa. http://www.naaic.org/TAG/TAGpapers/rotili/rotilipapers.html

SAS Institute. 2008. SAS system for Windows: Release 9.2. SAS.

Scotti, C., M. Carelli, O. Calderini, F. Panara and P. Gaudenzi. 2011. Agronomic and molecular analysis of heterosis in alfalfa. Plant Genet. Resour. Characterization Utilization. 9: 288-290.

Smith, K.F., K. F. M. Reed and J. Z. Foot. 1997. An assessment of relative importance of specific traits for the genetic improvement of nutritive value in dairy pasture. Grass. Forage. Sci. 52: 167-175.

Van Soest, P. J. 1995. What constitutes alfalfa quality: new considerations. *In:* Davis, C.A. (Ed.), Proceedings of the 25th National Alfalfa Symposium. pp. 1-15. Certified Alfalfa Seed Council. Syracuse, NY, USA.

Yan, W. and M. S. Kang. 2003. GGE Biplot Analysis: A Graphical Tool for Breeders, Geneticists, and Agronomists. CRC Press, Boca Raton, FL.

Yan, W., L. A. Hunt, Q. Sheng, and Z. Szlavnics. 2000. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. Crop Sci. 40: 597- 605.

Zhang, Y. and M. S. Kang. 1997. DIALLEL-SAS: a SAS program for Griffing's diallel analyses. Agron. J. 89: 176–182.

Zhang, Y., M. S. Kang and R. R. Lamkey. 2005. DIALLEL-SAS05: a comprehensive program for Griffing's and Gardner- Eberhart analyses. Agron. J. 97: 1097–1106.

www.SID.ir

Archive of SID

Identification of qualitative superior hybrids based on second selfing generation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) using GGE-Biplot analysis

Ghotbi, V.[1], F. Azizi[2], M. J. Zamani[3], A. Moghadam[4] and A. Roozbehani[5]

ABSTRACT

Ghotbi, V., F. Azizi, M. J. Zamani, A. Moghadam and A. Roozbehani. 2018. Identification of qualitative superior hybrids based on second selfing generation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) using GGE-Biplot analysis. **Iranian Journal of Crop Sciences. 20(3): 252-266. (In Persian).**

Improvement of forage quality is one of the important purposes of alfalfa breeding in order to develop cultivars with higher feeding values. The objective of this experiment was to evaluate of combining ability and heterosis for forage quality including; leaf to stem ratio, crude protein, soluble carbohydrate, ash, acid detergent fiber and neutral detergent fiber by GGE biplot graphical method. Selected partially inbred lines from the second generation selfing of eight alfalfa ecotypes were evaluated in a half-diallel cross design. Field experiments were performed in a randomized complete block design with three replications, included eight parents and 28 F1 at two locations, Karaj and Arak, Iran, during 2015-2016. Based on the results of Griffing method, mean square of GCA and SCA and SCA by environment interaction were significant for all the traits ($p<0.01$) and GCA by environment interaction were significant for leaf to stem ratio ($p<0.05$) and also for ADF and NDF ($p<0.01$). GGE biplot graphical method showed the highest positive GCA for Silvana and the most negative GCA for Kozare and Rahnani for leaf to stem ratio, crude protein, soluble carbohydrate, ash. Nikshahri showed the highest positive GCA for acid detergent fiber and neutral detergent fiber as the unfavorable traits. SCA was the maximum for two specific parents; Ghahavand and Silvana for all the traits. Results revealed that there were proper diversity and heterosis for forage quality in alfalfa parents, so selfing and crossing between the partially inbreds (S_2) could be possible by crossing between best single crosses to produce free hybrids to improve forage quality.

Key words: Alfalfa, Biplot, Half-Diallel, Specific combining ability, Forage quality and Specific combinig ability.

Received: March, 2018 **Accepted: August, 2018**

1. Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran (Corresponding author) (Email: v.ghotbi@areoo.ac.ir)
2. Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3. Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
5. Researcher, Seed and Plant Improvement Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Arak, Iran

www.SID.ir