

ارزیابی تنوع ژنتیکی یونجه (*Medicago sativa* L.) با استفاده از شاخص‌های ریخت‌شناسی و شیمیایی

محسن فرشادفر^۱، شراره فارغی^۲، عزت‌اله فرشادفر^۳ و علی‌اشرف جمفری^۴

۱- استادیار دانشگاه پیام نور استان کرمانشاه، E-mail: Farshadfarmohsen@Yahoo.com

۲- کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه.

۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه.

۴- دانشیار مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران.

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۸۶/۶/۲۶

چکیده

تنوع ژنتیکی اساس مطالعات اصلاحی در بسیاری از گونه‌های گیاهی است و یکی از مهمترین شاخصها جهت انتخاب والدین می‌باشد. هدف از این آزمایش، بررسی تنوع ژنتیکی و مقایسه یونجه‌های دائمی با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و شیمیایی می‌باشد. صفات ریخت‌شناسی شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه اصلی، وزن تر بوته، عملکرد وزن خشک بوته، نسبت وزن خشک برگ به عملکرد وزن خشک گیاه و نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه در ۱۸ رقم یونجه اندازه‌گیری شد. همچنین ترکیبات شیمیایی از قبیل درصد ماده خشک، درصد پروتئین خام، درصد لیاف خام، درصد خاکستر و درصد عناصر کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم، منیزیم، مس، منگنز، روی و آهن تعیین گردیدند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات ریخت‌شناسی و ترکیبهای شیمیایی، ژنوتیپ‌ها را به ترتیب در چهار و پنج دسته گروه‌بندی کرد. نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس صفات ریخت‌شناسی بیشترین تنوع را در صفات وزن خشک بوته و ارتفاع بوته و نیز در ترکیبات شیمیایی درصد پروتئین و درصد کلسیم نشان دادند. وراثت‌پذیری (Hb)، ضریب تنوع فنوتیپی (P.C.V) و ضریب تنوع ژنوتیپی (G.C.V) نیز برای صفات مختلف محاسبه گردید. وراثت‌پذیری صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه اصلی، وزن تر بوته، عملکرد وزن خشک بوته، نسبت وزن خشک برگ به عملکرد وزن خشک گیاه و نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه به ترتیب برابر با ۰/۸۱، ۰/۹۴، ۰/۸۲، ۰/۸۹، ۰/۶۸ و ۰/۸۰ بود. مقدار P.C.V برای صفات یاد شده به ترتیب ۱۴/۲۵۱٪، ۲۱/۸۶٪، ۲۶/۵۸٪، ۲۳/۷۱٪، ۱۲/۴۹٪ و ۲۸/۸۸٪ و میزان G.C.V برای صفات یاد شده ۹/۶۷٪، ۱۸/۸۴٪، ۱۸/۵۲٪، ۱۸/۳۴٪، ۶/۸۴٪ و ۱۸/۵۱٪ بود.

واژه‌های کلیدی: یونجه، تنوع ژنتیکی، وراثت‌پذیری، صفات ظاهری و ترکیبهای شیمیایی.

مقدمه

محیطی به عنوان ملکه گیاهان لقب گرفته است (کریمی، ۱۳۶۹). تنوع ژنتیکی اساس مطالعات اصلاحی در گونه‌های گیاهی است. بنابراین جهت مطالعات ژنتیکی و اصلاح ارقام مناسب‌تر و عملکرد بالاتر و سازگارتر ابتدا

یونجه گیاهی علوفه‌ای است که در میان نباتات علوفه‌ای به علت میزان پروتئین بالا، خوش‌خوراکی، قابلیت هضم بالا و سازگاری آن در شرایط مختلف

صفات دارای نقاط ضعف و قوتی است که می‌بایست به موقع و مناسب از آنها استفاده شود. در خیلی از موارد، میزان تنوع ارزیابی شده با استفاده از نشانگرهای یاد شده نتایج یکسانی داده است که این امر موجب صرفه‌جویی در امکانات، کوتاه کردن زمان تحقیق و افزایش دقت و صحت کار شده است (فرشادفر، ۱۳۷۴؛ Gupta, 1996; Farshadfar et al., 1995).

Martiniello و همکاران (۱۹۹۴) تنوع فنوتیپی موجود میان ۵۴ نمونه و جمعیت گونه *Medicago arborea* را مورد ارزیابی قرار داده و تنوع فنوتیپی گسترده‌ای را در صفات مختلفی نظیر وزن خشک، نسبت برگ به ساقه و ارتفاع گیاه در میان آنها مشاهده نموده‌اند. Hebert و همکاران (۱۹۹۴) در مطالعات خود مشاهده کرده‌اند که با افزایش تنش‌های محیطی، تنوع ژنتیکی میان تعدادی از صفات در یونجه‌های یکساله آشکارتر می‌شود. Vitale و همکاران (۱۹۹۸) تنوع ژنتیکی درون جمعیتی گونه *M. polymorpha* که یونجه‌ای یکساله و کاملاً خودگشن است، مورد بررسی قرار داده‌اند. انتظار می‌رود به علت خودگشن بودن، تنوع ژنتیکی کمی در داخل جمعیت دیده شود. با این حال، تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های مختلف در سطوح ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و مولکولی فراوانی در آن مشاهده می‌گردد که این تنوع ممکن است به دلیل تلاقی‌های درون گونه‌ای و بین گونه‌ای باشد که با فراوانی پایینی اتفاق می‌افتد و جهش‌های اتفاقی و مکرر نیز می‌تواند موجب ایجاد تنوع شود (Vital et al., 1998). در این تحقیق به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی درون تعدادی از ژنوتیپ‌های یونجه چندساله (*Medicago sativa*) از صفات ریخت‌شناسی، زراعی و شیمیایی استفاده شد.

باید میزان تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌های یونجه تعیین و سپس اقدام به اصلاح آن نمود. یونجه گیاه بومی کشور ایران می‌باشد و از تنوع بسیار بالایی اعم از یونجه‌های یکساله تا یونجه‌های چند ساله بین و درون گونه‌های مختلف آن وجود دارد (میرزایی ندوشن، ۱۳۸۰). جنس *Medicago* ۳۴ گونه یک ساله و ۵۱ گونه چند ساله دارد (Small & Jomphe, 1988).

تنوع گونه‌های گیاهی در یک محیط موجب پایداری و افزایش قابلیت تولید آن اکوسیستم می‌گردد، اما نکته حائز اهمیت این می‌باشد که تنوع داخل گونه‌ها می‌تواند نقش مهمی را در میزان تولید یک اکوسیستم ایفا کند (Tilman & Wedin, 1996).

فاصله ژنتیکی بر اساس ترکیب ژنتیکی جمعیت‌های بیولوژیکی می‌تواند بوسیله فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف (فاصله ژنوتیپی) و یا فراوانی آلل‌های مختلف در مکان ژنی مورد نظر (فاصله ژنی) ارائه گردد. فاصله ژنی ارتباط مثبتی با پدیده هتروزیس دارد (Falconer, 1989). تعیین فاصله، یک روش آماری چند متغیره است که بر اساس تعدادی صفت قابل اندازه‌گیری محاسبه می‌گردد و یک روش کارآمد جهت تعیین فاصله ژنی و یا ژنوتیپی در ارزیابی‌های تنوع ژنتیکی می‌باشد. تحقیقات زیادی درباره محاسبه تنوع ژنتیکی و کاربرد آن در اصلاح گیاهان مختلف ارائه شده است (فرشادفر و فرشادفر، ۱۳۸۱؛ Bauchan et al., 1993).

ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی معمولاً بر اساس نشانگرهای فنوتیپی، بیوشیمیایی (پروتئین و آیزوایم‌ها)، سیتوژنتیکی (انواع نواربندی کروموزومی و سیتوژنتیک مولکولی) و مولکولی (نشانگرهای DNA مبتنی بر PCR و غیر مبتنی بر PCR) انجام می‌گیرد. هر یک از این دسته

مواد و روشها

تعداد ۱۸ رقم یونجه چند ساله به طور تصادفی از بین توده‌های موجود در بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انتخاب و در ایستگاه تحقیقاتی مهرگان متعلق به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه با اقلیم نیمه خشک سرد تا معتدل (طول جغرافیایی ۵۹ و ۴۶ و عرض جغرافیایی ۰۸ و ۳۴) با خاک لوم (بافت متوسط)، ارتفاع از سطح دریا ۱۲۶۰ متر و میانگین بارندگی سالانه ۴۰۰ میلی‌متر و متوسط دما ۲۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. طرح مورد استفاده برای این تحقیق، بلوکهای کامل تصادفی با ۱۸ تیمار و ۲ تکرار که هر تکرار دارای ۱۸ پلات آزمایشی بود. فاصله ردیف‌ها از یکدیگر ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها بر روی ردیف‌ها از یکدیگر ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. صفات ریخت‌شناسی مختلف مانند ارتفاع بوته، تعداد شاخه اصلی، وزن تر بوته، عملکرد خشک بوته، نسبت وزن خشک برگ به عملکرد خشک گیاه و نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه اندازه‌گیری شد. با توجه به اینکه گیاه یونجه یک نبات علوفه‌ای است، اطلاع از ترکیبات شیمیایی آن اهمیت داشته و در تغذیه دام نقش اساسی دارد. به همین منظور آزمایشهای تجزیه‌ی شیمیایی و تغذیه‌ای شامل درصد ماده خشک، درصد پروتئین خام، درصد الیاف خام، درصد خاکستر و درصد عناصر کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم، منیزیم، مس، منگنز، روی و آهن تعیین گردیدند. بر اساس صفات اندازه‌گیری شده و با استفاده از نرم افزارهای SPSS و MSTAT-C محاسبات آماری انجام گرفت. تجزیه واریانس بر روی شش صفت ریخت‌شناسی انجام شد و با استفاده از آزمون دانکن (DMRT)، مقایسه میانگینها صورت گرفت. دسته‌بندی ژنوتیپها با روش

UPGMA و فاصله اقلیدسی D^2 استفاده شد. اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی طبق دستورالعمل استاندارد موجود در آزمایشگاه تغذیه و فیزیولوژی بخش تحقیقات دامپروری مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه و فرمولهای زیر انجام گرفت.

پروتئین خام توسط دستگاه میکروکلدال مدل ۱۰۳۰ KJELTEC AUTO ANALYZER پس از مراحل آماده سازی نمونه اندازه‌گیری شد.

$$\text{درصد ماده خشک} = \frac{M_3 - M_1}{M_2 - M_1} \times 100$$

وزن خالی ظرف = M_1 ، وزن ظرف + وزن نمونه مرطوب = M_2 و وزن ظرف + وزن نمونه خشک شده = M_3

$$\text{درصد فیبر} = \frac{W_1 - W_2}{P} \times 100$$

وزن مواد خشک شده = W_1 ، وزن خشک خاکستر حاصل = W_2 و وزن نمونه آزمایش شده = P

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \times 100$$

وزن نمونه = M_0 ، وزن بوته چینی = M_1 و وزن بوته چینی با خاکستر = M_2

برای تعیین درصد عناصر معدنی از دستگاه اسپکتروسکوپی (Spectroscopy Atomic Absorption) جذب اتمی استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی (جدول ۱) اختلاف معنی‌داری ($p < 0/01$) را بین ژنوتیپها برای صفت ارتفاع نشان دادند. وزن تر بوته، تعداد ساقه‌های اصلی، وزن خشک بوته و نسبت برگ به کل بیوماس و نسبت برگ به ساقه اختلاف معنی‌داری در

هجده ژنوتیپ مورد بررسی، در ۴ گروه قرار گرفتند (شکل ۱). گروه اول، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۴، ۱، ۲، ۶، ۱۴، ۱۸ و ۱۱، گروه دوم، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۹، ۱۶ و ۱۷، گروه سوم، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۱۲، ۱۵ و ۱۳ و گروه چهارم، شامل چهار ژنوتیپ به شماره‌های ۵، ۸، ۷ و ۱۰ می‌باشد. برای تعیین سهم صفات در میزان تنوع، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام گرفت. بر اساس این روش، دو مؤلفه اصلی اول بیش از ۹۴٪ از تنوع موجود در بین توده‌ها را در برداشتند که ضرایب مربوط به این مؤلفه‌ها در جدول ۴ آمده است. در این بررسی اولین مؤلفه ۷۰/۶۹ و دومین مؤلفه ۲۴/۲۰ درصد سهم دارند.

تنوع ژنتیکی بر اساس شاخص‌های شیمیایی و تغذیه‌ای

نتایج حاصل از آزمایش‌های تعیین درصد مواد غذایی برای ۱۸ ژنوتیپ در جدول ۵ نشان داده شده است. در این بررسی از تجزیه خوشه‌ای برای دسته‌بندی ۱۸ ژنوتیپ مورد نظر برای تجزیه شیمیایی استفاده شد. در نتیجه، ۱۸ ژنوتیپ در ۵ گروه قرار گرفته‌اند که عبارتند از: گروه اول شامل ده ژنوتیپ ۸، ۱۱، ۴، ۶، ۳، ۱، ۲، ۱۸، ۱۵، ۷، ۱۳، ۱۴، ۱۲ و ۵، گروه دوم شامل ژنوتیپ ۱۶، گروه سوم شامل ژنوتیپ ۱۷، گروه چهارم شامل ژنوتیپ ۹ و گروه پنجم شامل ژنوتیپ ۱۰.

لازم به یادآوری است که بیشترین فاصله مربوط به خوشه‌های یک و پنج است. از مقایسه نتایج بررسی گروه‌بندی صفات ریخت‌شناسی با گروه‌بندی صفات بر اساس تجزیه شیمیایی می‌توان به این نتیجه دست یافت که ژنوتیپ‌های ۳، ۴، ۱، ۲، ۶، ۱۴، ۱۸ و ۱۱ با ژنوتیپ ۱۰ در هر دو مورد بیشترین فاصله و در نتیجه کمترین قرابت ژنتیکی را با هم دارند و در آزمایشات تلاقی پروژه‌های اصلاحی می‌توان از آنها بهره گرفت که قاعدتاً این موضوع

سطح احتمال ۰.۵٪ نشان دادند. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۰.۵٪ انجام و نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است.

برای صفت ارتفاع بوته بالاترین مقدار مربوط به ژنوتیپ شماره ۱۳ (همدانی) بود. تعداد ساقه‌های اصلی ژنوتیپ‌های ۱۳ و ۱۵ (سیمر جنسکایا) نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود. از نظر وزن تر بوته، ژنوتیپ‌های شماره ۱۳ و ۱۵ نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها برتری نشان دادند. اختلاف ژنوتیپ‌های ۱۳ و ۱۵ از لحاظ وزن خشک بوته نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها معنی‌دار ($p < 0.05$) بود. از لحاظ نسبت برگ به کل بیوماس، ژنوتیپ ۱۰ (ترکیه) نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها برتری نشان داد. ژنوتیپ ۱۰ از نظر نسبت برگ به ساقه دارای بالاترین میزان در بین ژنوتیپ‌ها بود.

در جدول ۳ ضریب تغییرات فنوتیپی (P.C.V)، ضریب تغییرات ژنوتیپی (G.C.V) و وراثت‌پذیری (Hb) برای صفات مورد بررسی ارائه شده است. بالاترین ضریب تنوع فنوتیپی مربوط به صفت نسبت وزن برگ به وزن ساقه بود که مقدار آن برابر ۲۸/۸۸ و بالاترین ضریب تنوع ژنوتیپی مربوط به صفت تعداد ساقه‌های اصلی در بوته بود. صفات تعداد ساقه‌های اصلی، وزن تر بوته، وزن خشک بوته و نسبت وزن برگ به وزن ساقه دارای ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی بالا و صفات ارتفاع بوته و نسبت برگ به کل بیوماس در زمره صفات دارای ضریب تغییرات پایین قرار می‌گیرند.

فاصله ژنتیکی بر اساس صفات ریخت‌شناسی

در این تحقیق از تجزیه خوشه‌ای (UPGMA) برای گروه‌بندی ۱۸ ژنوتیپ موجود استفاده گردید و از نظر کلیه صفات ریخت‌شناسی مورد بحث، گروه‌بندی انجام شد.

داده‌ها انجام شد. جدول ۶ واریانس مؤلفه‌های اصلی حاصل از تجزیه را برای صفات شیمیایی و تغذیه‌ای نشان می‌دهد. در این تحقیق، مؤلفه اول ۲۸/۲۹ درصد، مؤلفه دوم ۲۱/۵۴۸ درصد، مؤلفه سوم ۱۳/۹۷ درصد و مؤلفه چهارم ۹/۶۷ درصد از تغییرات کل داده‌ها را بیان می‌کند.

زمانی می‌تواند به مرحله اجرا در آید که ناسازگاری ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها وجود نداشته باشد. دندروگرام خوشه‌ای این ارقام در شکل ۲ ارائه شده است. به منظور تعیین متنوع‌ترین صفات شیمیایی و تغذیه‌ای در بین ۱۳ صفت مورد مطالعه، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی در ۱۸ رقم یونجه میانگین مربعات

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع (سانتیمتر)	تعداد ساقه	وزن تر (گرم در بوته)	وزن خشک (گرم در بوته)	نسبت برگ به ساقه چین اول	نسبت برگ به چین اول
تیمار (رقم)	۱۷	۸۳/۹۲۷**	۴۸۰/۱۴۵*	۴۰۶۲/۳۳۸*	۲۳۵/۱۲۷*	۰/۰۰۵*	۰/۱۸۱*
خطا	۱۷	۲۵/۷۵۶	۱۹۹/۱۲۴	۱۳۸۲/۹۴۱	۷۶/۳۷۳	۰/۰۰۲	۰/۰۷۳

ns غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح ۵٪، ** معنی‌دار در سطح ۱٪

جدول ۲- مقایسه ۱۸ رقم یونجه از نظر میانگین صفات مختلف زراعی، با روش دانکن (DMRT)

ردیف	ژنوتیپ	ارتفاع (سانتیمتر)	تعداد ساقه‌های اصلی	وزن تر (گرم در بوته)
۱	Anzal	۶۱/۷۰	۸۰/۶۷	۲۱۵/۲
۲	Yazdi2	۶۴/۱۶	۸۸/۱۷/	۲۲۸/۵
۳	Garayonjeh	۵۹/۴۰	۹۱/۱۷	۲۰۷/۸
۴	Nushin	۵۹/۴۲	۹۲/۴۰	۲۱۰/۸
۵	Razan	۵۲/۲۲	۵۲/۳۳	۱۳۲/۱
۶	Alborz unknown	۵۷/۳۳	۹۲/۵۰	۱۹۶/۱
۷	Nushin2	۵۱/۷۶	۶۸/۱۷	۱۵۴/۸
۸	Bonab	۵۳/۵۳	۵۹/۵۰	۱۵۵/۸
۹	Turkey un2122	۶۸/۰۷	۷۷/۸۳	۲۴۱/۸
۱۰	Turkey	۵۱/۳۹	۷۴/۶۷	۱۵۷/۵
۱۱	Gharaah youn2	۶۲/۲۳	۷۰/۰۰	۲۱۶/۸
۱۲	Alborz un320	۶۰/۷۴	۹۴/۵۰	۲۷۳/۷

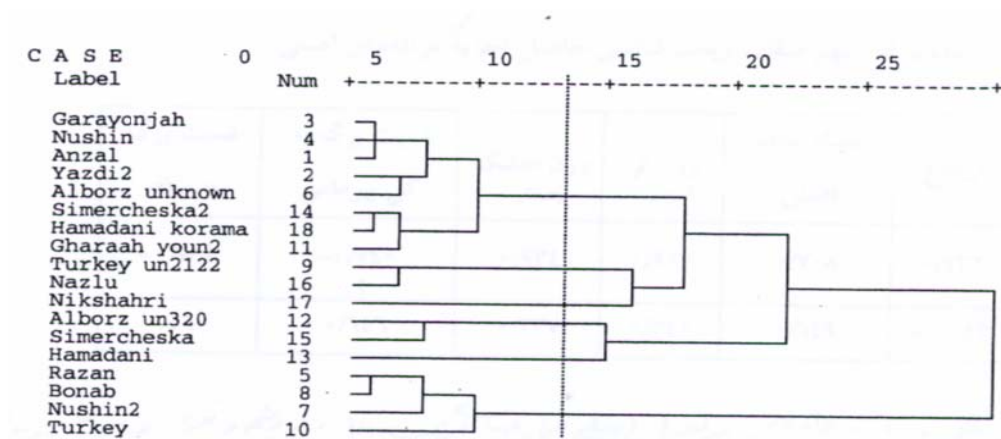
ادامه جدول ۲- مقایسه ۱۸ رقم یونجه از نظر میانگین صفات مختلف زراعی، با روش دانکن (DMRT)

ردیف	ژنوتیپ	ارتفاع (سانتیمتر)	تعداد ساقه های اصلی	وزن تر (گرم در بوته)
۱۳	Hamadani	۷۵/۷۶ a	۱۰۴/۵۰ a	۲۸۶/۳ a
۱۴	Simercheska2	۵۷/۲۲ bcd	۷۹/۶۷ abcde	۱۸۶/۳ bcd
۱۵	Simercheska	۶۸/۰۱ ab	۱۰۴/۰۰ a	۲۸۰/۳ a
۱۶	Nazlu	۶۳/۶۵ bc	۸۴/۳۳ abcde	۲۲۹/۵ abc
۱۷	Nikshahri	۶۶/۸۸ ab	۵۵/۰۰ de	۱۷۰/۶ cd
۱۸	Hamadani korama	۶۰/۳۵ bcd	۷۰/۵۰ abcde	۱۷۹/۰ cd

ردیف	ژنوتیپ	وزن خشک (گرم در بوته)	نسبت برگ به کل بیوماس	نسبت برگ به ساقه
۱	Anzal	۵۷/۲۸ abcde	۰/۵۹۵ abcd	۱/۵۶۵ abcd
۲	Yazdi2	۵۹/۴۹ abcd	۰/۵۶۵ abcde	۱/۳۵۵ bcde
۳	Garayonjeh	۵۶/۱۵ abcde	۰/۶۲۰ ab	۱/۷۲۵ abc
۴	Nushin	۵۸/۴۲ abcde	۰/۶۰۰ abcd	۱/۵۵۰ abcde
۵	Razan	۳۷/۲۶ e	۰/۶۱۵ abc	۱/۷۴۰ abc
۶	Alborz unknown	۵۵/۷۳ abcde	۰/۵۶۰ abcde	۱/۳۶۵ abcde
۷	Nushin2	۴۶/۵۶ cde	۰/۵۹۰ abcd	۱/۵۴۵ abcde
۸	Bonab	۴۲/۱۴ de	۰/۶۱۵ abc	۱/۸۹۵ ab
۹	Turkey un2122	۶۵/۱۸ abc	۰/۴۶۰ e	۰/۸۹۵ e
۱۰	Turkey	۴۳/۵۸ de	۰/۶۶۵ a	۲/۰۱۵ a
۱۱	Gharaah youn2	۵۷/۰۲ abcde	۰/۵۴۰ bcde	۱/۲۵۰ bcde
۱۲	Alborz un320	۶۸/۴۰ ab	۰/۶۰۰ abcd	۱/۵۵۵ abcde
۱۳	Hamadani	۷۶/۹۵ a	۰/۵۱۰ cde	۱/۰۹۵ cde
۱۴	Simercheska2	۴۹/۴۹ bcde	۰/۵۶۵ abcde	۱/۳۲۰ bcde
۱۵	Simercheska	۷۳/۴۸ a	۰/۵۶۵ abcde	۱/۳۵۰ bcde
۱۶	Nazlu	۶۰/۱۵ abcd	۰/۵۰۵ de	۱/۰۲۵ de
۱۷	Nikshahri	۴۶/۱۷ cde	۰/۵۲۰ bcde	۱/۱۰۵ cde
۱۸	Hamadani korama	۴۸/۶۳ bcde	۰/۵۶۰ abcde	۱/۳۲۵ bcde

جدول ۳- برآورد عاملهای تنوع ژنتیکی برای شش صفت مورفولوژیکی

عامل ژنتیکی	ارتفاع (سانتیمتر)	تعداد ساقه اصلی	وزن تر (گرم در بوته)	وزن خشک (گرم در بوته)	نسبت وزن برگ به کل بیوماس	نسبت وزن برگ به وزن ساقه
PCV	٪۱۴/۲۵	٪۲۱/۸۶	٪۲۶/۵۸	٪۲۳/۷۱	٪۱۲/۴۹	٪۲۸/۸۸
GCV	٪۹/۶۷	٪۱۸/۸۴	٪۱۸/۵۲	٪۱۸/۳۴	٪۶/۸۴	٪۱۸/۵۱
Hb	۰/۸۱	۰/۹۴	۰/۸۲	۰/۸۹	۰/۶۸	۰/۸۰



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۸ رقم یونجه، بر اساس شش صفت ریخت‌شناسی

جدول ۴- واریانس مؤلفه‌های اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای صفات ریخت‌شناسی

صفات	مؤلفه ۱	مؤلفه ۲
ارتفاع (سانتیمتر)	۰/۹۲۶	-۰/۱۵۲
تعداد ساقه اصلی	۰/۷۰۸	۰/۶۴۹
وزن تر (گرم در بوته)	۰/۹۲۱	۰/۳۴۱
وزن خشک (گرم در بوته)	۰/۹۳۴	۰/۳۳۷
نسبت برگ به کل بیوماس	-۰/۷۴۰	۰/۶۵۶
نسبت برگ به ساقه	-۰/۷۸۴	۰/۵۹۰
ریشه مشخصه	۴/۲۴	۱/۴۵
درصد تجمعی	۷۰/۶۹	۲۴/۲۰
واریانس تجمعی	۷۰/۶۹	۹۴/۸۹

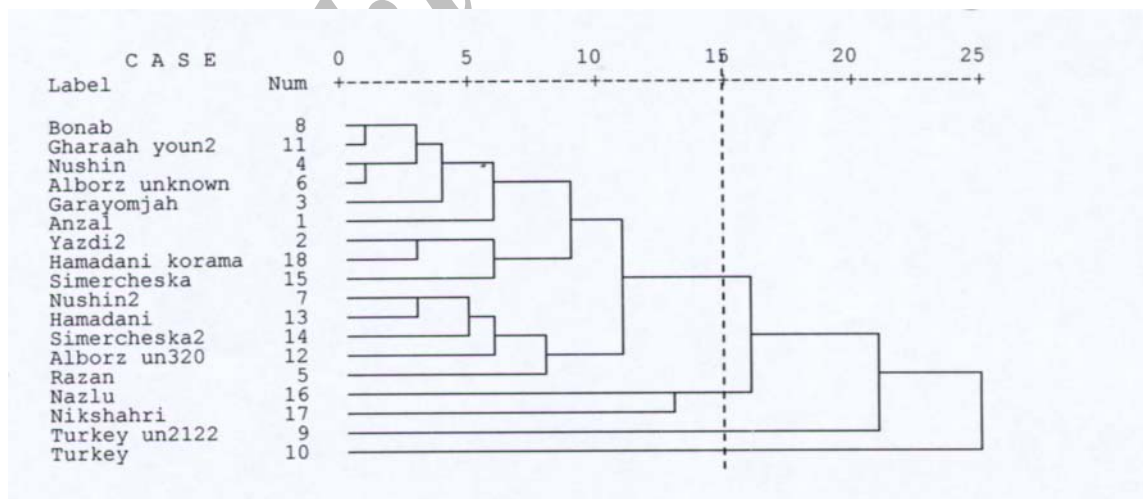
جدول ۵- نتایج حاصل از آزمایشهای تعیین درصد مواد غذایی، برای ۱۸ رقم یونجه

%	PPM	PPM	PPM	PPM	%	%	%	%	%	%	%	%
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Archive of SID

جدول ۶- جدول واریانس مؤلفه‌های اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای ترکیبات شیمیایی

صفات	مؤلفه ۱	مؤلفه ۲	مؤلفه ۳	مؤلفه ۴
ماده خشک	-۰/۱۱۲	-۰/۷۰۸	-۰/۴۰۱	-۰/۱۷۴
پروتئین	۰/۸۰۵	۰/۰	-۰/۱۷۱	-۰/۳۰۱
فیبر	-۰/۷۵۳	-۰/۳۷۰	۰/۲۱۵	۰/۳۶۸
کلسیم	-۰/۱۶۳	۰/۵۱۰	-۰/۳۸۴	۰/۵۳۱
فسفر	۰/۷۵۱	-۰/۳۸۹	۰/۰	۰/۳۱۰
پتاسیم	۰/۸۶۳	-۰/۱۰۹	-۰/۲۵۷	۰/۱۶۴
سدیم	۰/۵۳۰	۰/۱۲۴	-۰/۶۰۶	۰/۱۰۴
منیزیم	۰/۴۶۲	-۰/۲۷۹	۰/۳۵۸	-۰/۳۲۸
مس	۰/۱۸۷	-۰/۴۸۷	۰/۵۱۵	۰/۴۲۹
منگنز	۰/۲۰۶	۰/۵۸۳	۰/۴۷۳	۰/۰
روی	۰/۶۵۳	-۰/۱۲۰	۰/۳۱۳	۰/۴۶۲
آهن	۰/۳۴۱	۰/۴۲۹	۰/۵۲۹	-۰/۲۲۱
خاکستر	۰/۰	۰/۹۳۰	۰/۰	۰/۱۷۹
ریشه مشخصه	۳/۶۷	۲/۸۰	۱/۸۱	۱/۲۵
درصد تجمعی	٪۲۸/۲۹	٪۲۱/۵۴	٪۱۳/۹۷	٪۹/۶۷
واریانس تجمعی	٪۲۸/۲۹	٪۴۹/۸۴	٪۶۳/۸۱	٪۷۳/۴۹



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۸ رقم یونجه، بر اساس سیزده ترکیب شیمیایی

بحث

هدف اصلی به‌نژادی بدست آوردن رقمی است که عملکرد سبز و خشک آن بیشتر و همچنین میزان زیادتری پروتئین داشته باشد. از این‌رو، باید فرم‌هایی انتخاب شوند که بعد از گذشت چندین سال از کشت، حداکثر عملکرد را در اولین چین داشته و همچنین در چین‌های بعدی نیز محصول تولید نمایند (کریمی، ۱۳۶۹). همان‌گونه که در این تحقیق مشاهده می‌شود، ژنوتیپ‌های ۱۳ و ۱۵ حداکثر میزان وزن خشک و تر را دارا می‌باشند. از طرفی، ژنوتیپ‌های شماره ۱۳ و ۱۵ در مقایسه با ارقام دیگر از میانگین وزن تر بیشتری برخوردار هستند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اگر فقط افزایش میزان علوفه مدنظر باشد، این دو رقم (۱۳ و ۱۵) نسبت به سایر ارقام دارای عملکرد علوفه‌ای بیشتری هستند.

پنجه زدن طوقه، یکی از عوامل مهم و تعیین‌کننده محصول یونجه است و از جهت اقتصادی شایسته است که به‌نژادگران توجه خود را به ارقام با قدرت پنجه‌دهی بیشتر، معطوف دارند. در برنامه به‌نژادی همچنین باید به شاخه‌دهی ساقه‌های یونجه که عامل تشکیل دهنده عملکرد یا محصول علوفه است توجه خاص مبذول داشت. فرم‌های یونجه دورگ (*M. madia*) نسبت به فرم‌های یونجه معمولی (*M. sativa*) قدرت بیشتری برای شاخه‌دهی ساقه دارند. معمولاً هر اندازه پنجه زدن در یونجه کمتر باشد، ساقه‌های تشکیل شده قوی‌تر و خشبی‌تر هستند. انتخاب فرم‌های یونجه با پنجه‌دهی خوب، در بیشتر موارد محصولی را با ساقه‌های ظریف تولید می‌کند که نتیجه کلی آن بالا بودن ارزش علوفه است (کریمی، ۱۳۶۹). در این بررسی ارقام شماره ۱۳ و ۱۵ دارای بیشترین تعداد ساقه‌های اصلی می‌باشد. بنابراین

با توجه به مطالبی که یاد شد، اگر هدف انتخاب رقمی با عملکرد مناسب و نیز تا حدی با ارزش علوفه‌ای مطلوب (از لحاظ قابلیت هضم) باشد، ارقام شماره ۱۳ و ۱۵ در مقایسه با سایر ارقام برتری نشان می‌دهند.

در برنامه‌های اصلاحی برای کیفیت علوفه (از جهت میزان برگ تشکیل دهنده علوفه)، نسبت برگ به ساقه و نسبت برگ به عملکرد وزن خشک گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و این دو صفت از عوامل مهم سنجش به‌نژادی در یونجه به حساب می‌آیند (کریمی، ۱۳۶۹). در بررسی‌های انجام شده، مشخص شد که رقم ۱۰ از نظر دو صفت نامبرده دارای میانگین بالاتری نسبت به دیگر ارقام می‌باشد. در نتیجه، اگر هدف بهبود کیفیت یونجه باشد، می‌توان از این رقم به عنوان والد در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود. در سال ۱۹۹۲ گزارشی مبنی بر مقایسه رقم بومی (کرج) و زراعی یونجه علوفه‌ای از نظر صفات کیفی و کمی توسط فضل‌ی و یزدی صمدی ارائه شده است. براساس این گزارش، شش صفت از رقم یونجه (*M. sativa*) در چندین چین مختلف طی ۷ سال ارزیابی شده است. تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از تمامی ارقام بومی و زراعی، تنوع ژنتیکی زیادی را برای همه صفات نشان داد. ارقام معرفی شده (از کشورهای خارجی) نسبت به کولتیوارهای ایرانی، از نظر محصول علوفه تازه (وزن تر علوفه) و ارتفاع گیاه برتری نشان دادند (Fazli & Yazdisamadi, 1992).

میزان ضریب تغییرات فنوتیپی برای تمامی صفات، بیشتر از ضریب تغییرات ژنوتیپی می‌باشد که این امر نشان دهنده بالا بودن اثر محیط و اثر متقابل ژنوتیپ و محیط است. میزان وراثت‌پذیری معیاری است جهت تخمین پاسخ مورد انتظار به گزینش و در طراحی برنامه‌های اصلاحی موفق کاربرد دارد.

تعدادی از نمونه‌ها به عنوان کلکسیون نخبه‌ها (Core Collection) انتخاب شوند. در این مطالعه با استفاده از تجزیه خوشه‌ای، نمونه‌ها دسته‌بندی شده و با انتخاب یک نمونه از هر دسته حاصل از تجزیه خوشه‌ای، کلکسیون نخبه تشکیل گردید.

در این بررسی اولین مؤلفه ۷۰/۶۹۲ درصد از تغییرات کل داده‌ها را بیان می‌کند و این مؤلفه همبستگی مثبت بالایی با وزن خشک بوته و همبستگی منفی بالایی با نسبت برگ به ساقه دارد. همان‌گونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود این مؤلفه همبستگی مثبت بالایی نیز با صفاتی چون ارتفاع و وزن تر بوته دارد. از آنجا که این صفات با عملکرد گیاه همبستگی بالایی دارند، از این رو مؤلفه اول می‌تواند به عنوان مؤلفه عملکرد علوفه نام‌گذاری شود. دومین مؤلفه با ۲۴/۲۰۴ درصد از تغییرات کل و همبستگی مثبت بالایی با نسبت برگ به کل بیوماس دارد. همچنین همبستگی این مؤلفه با صفت نسبت برگ به ساقه نیز مثبت و بالا می‌باشد. با توجه به اینکه این صفات رابطه تنگاتنگی با کیفیت علوفه دارند، در نتیجه می‌توان مؤلفه دوم را به عنوان مؤلفه کیفیت علوفه نام‌گذاری نمود. واریته ۱۳ و ۱۵ که از طریق بهترین شاخص‌های تولید علوفه (وزن خشک علوفه، وزن تر بوته، تعداد ساقه‌های اصلی و ارتفاع) به عنوان واریته‌هایی با عملکرد بالا شناسایی شده بود، از نظر مؤلفه اول جزء ارقام مطلوب قرار می‌گیرند.

در مقادیر مؤلفه دوم، رقم ۱۰ بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است، بنابراین اگر فردی در کارهای اصلاحی هدفش تکیه بر صفاتی باشد که در مؤلفه‌ی دوم بیشترین ضریب را دارا باشد، می‌تواند از رقم ۱۰ به عنوان یک والد مناسب استفاده نماید.

شایان ذکر است که زیاد بودن میزان توارث‌پذیری یک صفت، نشان دهنده این است که آن صفت با تعداد ژن کمتری کنترل می‌شود و به عکس، پایین بودن میزان توارث‌پذیری، بیانگر کنترل صفت با تعداد بیشتری از ژنها می‌باشد (Falconer, 1989).

Hebert و همکاران (۱۹۹۴) در مطالعات خود مشاهده کردند که با افزایش تنش‌های محیطی تنوع ژنتیکی میان تعدادی از صفات در یونجه‌های یکساله آشکارتر می‌شود. Martiniello و همکاران (۱۹۹۴) تنوع فنوتیپی موجود میان ۵۴ نمونه و جمعیت از گونه *Medicago arborea* را مورد ارزیابی قرار داده‌اند و تنوع فنوتیپی گسترده‌ای را در صفات مختلفی نظیر وزن خشک، نسبت برگ به ساقه و ارتفاع گیاه در میان آنها مشاهده نموده‌اند.

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 دارای تشابه کمتری هستند با هم تلاقی داده شوند، صفات متنوع‌تری بدست خواهد آمد. همچنین برای استفاده از پدیده هتروزیس بایستی از افرادی استفاده کرد که از نظر ژنتیکی فاصله بیشتری با هم دارند. تجزیه خوشه‌ای این امکان را فراهم می‌سازد که افراد بر اساس 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 قرار گیرند و بر اساس آن می‌توان برای اهداف مورد نظر افراد مناسب را برای تلاقی یا سایر کارهای اصلاحی انتخاب کرد. ۱۲۲۰ نمونه از بذر گونه‌های مختلف یونجه یکساله موجود در بانک ژن آمریکا توسط Bauchan و همکاران (۱۹۹۳) مورد ارزیابی قرار گرفت تا در نتیجه آن

از این شاخص‌ها استفاده کرد و پیشرفت ژنتیکی را تسریع کرد.

منابع مورد استفاده

- فرشادفر، ع.، ۱۳۷۴. کاربرد ژنتیک کمی در اصلاح نباتات. جلد اول. انتشارات طاق‌بستان دانشگاه رازی.
- فرشادفر، م. و فرشادفر، ع.، ۱۳۸۱. مطالعه سیتوژنتیکی برخی از گونه‌های آگروپایرون در ایران. پژوهش و سازندگی، ۵: ۱۴-۱۸. کریمی، ه.، ۱۳۶۹. یونجه. مرکز نشر دانشگاهی، تهران.
- میرزایی ندوشن، ح.، ۱۳۸۰. یونجه‌های یکساله (ژنتیک و اصلاح). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور. ۲۱۳ صفحه.
- Bauchan, G.R., Diwan, N. and McIntosh, M., 1993. Development and evaluation of a core germplasm collection of annual *Medicago* species in the United States. In: Proceedings of the XVII International Grassland Congress. New Zealand, Australia. 1: 265-266.
- Falconer, D.S., 1989. Introduction to Quantitative Genetics. New York, Langman
- Farshadfar, M., Kissimon, T. and Sutka, J., 1995. Genetic distance between *Triticum timopheery zhuk*, *T. araraticum* Jakubz. Plant Breeding.
- Fazli, H. and Yazdisamadi, B., 1992. Comparison of 64 Iranian and foreign alfalfa land- races and cultivars for their agronomic and qualitative characteristics. Iranian Journal of Agricultural Sciences. Vol. 23 (1), 15.
- Gupta, P.K., 1996. Cytogenetics. Rastogi publications. Shvaji Road. Meerut- 250002 India.
- Hebert, D., Faure, S. and Olivieri, I., 1994. Genetic, phenotypic, and environmental correlations in black medic, *Medicago lupulina* L., grown in three different environments. Theoretical and Applied Genetics, 88: 604-613.
- Martiniello, P., Baviello, G. and Lamascese, N., 1994. Phenotypic variability for morphological and yield parameters in woody forage accessions of salt bush (*Atriplex halimus* L.) and tree - medic (*medicago arborea* L.). Journal of Genetics and Breeding, 48: 175 - 181.
- Small, E. and Jomphe, M., 1988. A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae). Canadian Journal of Botany, 67; 3260-3294.
- Tilman, D., Wedin, D., 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. Nature, 718-720.
- Vitale, M., Pupilli, F., Labombarda, P. and Arcioni, S., 1998. RAPD analysis reveals a low rate of outcrossing in burr medic (*Medicago polymorpha* L.). Genetic Resources and Crop Evolution, 45: 337-342.

در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی داده‌های صفات شیمیایی و تغذیه‌ای، مؤلفه اول همبستگی مثبت بالایی با درصد پروتئین خام دارد. از آنجا که درصد پروتئین خام یکی از صفات با ارزش در تغذیه دام به‌شمار می‌آید، بنابراین می‌توان مؤلفه اول را مؤلفه پروتئین خام نام‌گذاری نمود. مؤلفه دوم ۲۱/۵۴۸ درصد از تغییرات کل داده‌ها را بیان می‌نماید و این مؤلفه همبستگی بالا با درصد خاکستر و همبستگی منفی با میزان ماده‌ی خشک دارد. مقادیر خاکستر موجود در گیاه از نظر ارزش غذایی آن اهمیت ندارد، زیرا مقدار خاکستر موجود در گیاه چه از نظر مقدار کل و چه از نظر اجزا ترکیبی آن، بسیار متغیر است. مؤلفه سوم با ۱۳/۹۷۷ درصد از تغییرات کل داده‌ها، همبستگی مثبت و بالایی با میزان (آهن) همبستگی منفی با سدیم دارد. اگر چه آهن جزء ترکیبی مولکول کلروفیل نیست، با این حال، کاتالیزور مورد نیازی است که در ترکیب کلروفیل دخالت دارد. آهن در عمل تنفس نیز دخالت دارد، زیرا جزء ترکیبی ماده رنگی تنفس به نام سیتوکروم است. پس کمبود آن در گیاه سبب اختلال در فرایندهای فتوسنتز و تنفس می‌گردد. بنا به اهمیت آهن در گیاه و با توجه به همبستگی مؤلفه سوم، با این ماده می‌توان مؤلفه سوم را مؤلفه تنظیم‌کننده متابولیسم نامید. مؤلفه چهارم که ۹/۶۷۳٪ تغییرات داده‌ها را بیان می‌کند، همبستگی مثبت با درصد کلسیم و همبستگی منفی با منیزیم دارد. کلسیم، موجب توسعه سریع رشد ریشه یونجه می‌شود و برای تشکیل غده روی ریشه و در نتیجه تثبیت ازت در خاک، یک عنصر ضروری است (کریمی، ۱۳۶۹). با در نظر گرفتن نقش اساسی کلسیم در تثبیت ازت از طریق تشکیل غده، می‌توان مؤلفه چهارم را مؤلفه تثبیت‌کننده ازت نامید. با توجه به سهم صفات در میزان تنوع، می‌توان در برنامه‌های اصلاحی

Study of genetic variation in *Medicago sativa* L. using morphological biochemical indices

M. Farshadfar¹, S.H. Fareghi², E. Farshadfar³ and A.A. Jafari⁴

1- Payame Noor University (PNU), Kermanshah, Iran. E- mail: Farshadfarmohsen @ Yahoo.com

2- Keramshah Research Centre of Agriculture and Natural Resources, Kermanshah, Iran.

3- Razi Univ. Kermanshah, Iran.

4- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran.

Abstract

Genetic diversity is one of the most important criteria to select parents in breeding programs. Morphological characters and chemical composition, including plant height, tiller number, biomass, dry yield, dry yield/ biomass, dry leaf/dry yield, macro and micro elements, crude protein, dry matter, crude fiber and ash percentage were measured in 18 alfalfa cultivars. The multivariate statistical procedures, such as cluster analysis (UPGMA) and principal components analysis were used. The results showed significant differences among genotypes for morphological traits. Genotype 13 and 15 showed the highest values for most of the studied traits. The Genotypic coefficient of variation (GCV), phenotypic coefficient of variation (PCV) and heritability (Hb) parameters were estimated for the characters. Hb for plant height, dry yield and leaf/dry yield were 0.81, 0.94, 0.82, 0.89, 0.68 and 0.80 respectively. Amount of P.C.V were 14.251%, 21.86%, 26.58%, 23.71%, 12.49% and 27.88% respectively, and the G.C.V were 9.67%, 18.84, 18.52%, 18,34%, 6.84% and 18.51, respectively. Based on the morphological traits, the genotypes could be classified into four clusters. Ninety for percent of variance among the genotypes were justified by the first two PCAs. Based on chemical traits they were classified into five groups and 73.492% of variance was explained by the first four principal components. Dry yield, protein percentage and Ca had higher portion of variance.

Key words: *Medicago sativa* L., genetic diversity, heritability, morphological characters and chemical composition.