"نشریه علوم زراعی ایران"
جلد بیست و دوم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

ارزیابی ترکیب‌پذیری عمومی و مقایسه کلون‌های منتخب نسل‌های خودبارور و آزاد گرده‌افشان اکوتیپ‌های یونجه (*Medicago sativa* L.)

Assessment of combining ability and comparison of selected selfed and open pollinated generations clones of alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes

ویدا قطبی[۱] و علی مقدم[۲]

چکیده

قطبی، و. و ع. مقدم. ۱۳۹۹. ارزیابی ترکیب‌پذیری عمومی و مقایسه کلون‌های منتخب نسل‌های خودبارور و آزاد گرده‌افشان اکوتیپ‌های یونجه (*Medicago sativa* L.). **نشریه علوم زراعی ایران. ۲۲ (۴): ۳۷۵-۳۶۵.**

این تحقیق به منظور ارزیابی کمی نسل‌های خودبارور (S1، S2 و S3) و آزاد گرده‌افشان یونجه (OP1, OP2, OP3) از نظر میزان پس‌روی خویش‌آمیزی و ترکیب‌پذیری عمومی در خانواده‌های نسل‌های دو خودبارور شده (S2) اکوتیپ‌های یونجه انجام شد. خود باروری گیاهان انتخابی به منظور تولید نسل‌های خودبارور S1، S2 و S3 در شرایط مزرعه انجام شد و از کلون‌های هر نسل خودبارورشده برای تولید نسل‌های آزاد گرده‌افشان در شرایط مزرعه استفاده شد. برای مقایسه عملکرد علوفه خشک و ارتفاع بوته نسل‌های خود بارور شده (S1, S2, S3) و نتاج نسل‌های آزاد گرده‌افشان (OP1, OP2, OP3)، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به مدت دو فصل رشد (۱۳۹۴-۱۳۹۳) در مزرعه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران اجرا شد. نتایج نشان داد که اختلاف بین اکوتیپ‌ها، نسل‌ها و سال‌های آزمایش و برهمکنش دو جانبه و سه جانبه بین آن‌ها برای صفات عملکرد علوفه خشک و ارتفاع بوته معنی‌دار بود. اکوتیپ‌های یونجه در برابر خود گشنی عکس العمل‌های متفاوتی داشتند و بیشترین میزان پس‌روی بنیه (ویگور) در نسل S1 مشاهده شد، ولی با ادامه خودگشنی بازگشت بنیه در کلیه اکوتیپ‌ها مشاهده شد و در نسلS3 بنیه گیاه در مقایسه با نسل OP1 به‌طور چشمیگیری افزایش یافت. بازگشت بنیه در تلاقی‌های OP2 بیشتر از OP3 بود. اکوتیپ‌های یزدی و نیک‌شهری که از اکوتیپ‌های مناطق گرمسیری هستند، بالاترین ترکیب‌پذیری عمومی برای عملکرد علوفه خشک را داشتند، بر این اساس به نظر می‌رسد که تلاقی این اکوتیپ‌ها با اکوتیپ‌هایی از مناطقی با تفاوت اقلیمی، در بهبود عملکرد ارقام سینتتیک یا هیبریدهای یونجه از قبیل هیبریدهای آزاد و یا شبه‌هیبریدها، مؤثرتر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: بنیه گیاه، پس‌روی خویش‌آمیزی، خودباروری، عملکرد علوفه و یونجه.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۱۹ این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی شماره ۹۰۱۲۰-۰۳-۰۳-۰۲ مصوب موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر می‌باشد.

۱- استادیار بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای 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 vghotbi@spii.ir)
۲- استادیار بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

مقدمه

یونجه (*Medicago sativa* L.) به دلیل ارزش غذایی بالا، تولید میزان بالای پروتئین در واحد سطح، تثبیت نیتروژن و حفظ ساختار خاک، از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای جهان است و اهمیت بسیار زیادی در تغذیه دام و کشاورزی پایدار دارد (Hill *et al*., 1988; Michaud *et al*., 1988). مبدا یونجه ناحیه قفقاز، شمال غرب ایران، شمال شرق ترکیه و ترکمنستان است (Michaud *et al*., 1988). اکوتیپ‌های یونجه در مناطق مختلف آب و هوایی ایران وجود دارند که دارای خصوصیات زراعی و فیزیولوژیکی متفاوتی بوده و امکان استفاده از آن‌ها در برنامه‌های مختلف به‌نژادی وجود دارد. اهداف اصلی در برنامه‌های به‌نژادی یونجه افزایش عملکرد، پایداری و کیفیت علوفه است (Veronesi *et al*., 2006). بهبود عملکرد یونجه به دلیل موانعی چون وراثت تتراسومی، دگرگرده افشانی و وابستگی به حشرات، دو جنسی بودن گل‌ها و خصوصیات ژنتیکی، پیشرفت کندی داشته است (Brummer, 1999; Scotti and Brummer, 2010) و در مقایسه با سایر گیاهان زراعی، تحقیقات کمتری در باره به‌نژادی ارقام یونجه انجام شده است (Rotili *et al*., 1999; Milić *et al*., 2014). با کشف هتروزیس و استفاده از آن در برنامه‌های به نژادی، افزایش عملکرد سرعت بیشتری یافت. یکی از موانع استفاده از هتروزیس در یونجه اتوتتراپلوئید، ساختار پیچیده ژنتیکی این گیاه است (Sriwatanapongse and Wilsie, 1968; Tysdal and Kiesselbach, 1942). نتایج تحقیقات نشان داده است که امکان استفاده از اثرات ژنتیکی افزایشی و غیرافزایشی در برگیرنده برهمکنش ژن‌های مکمل مرتبط با توارث پلی‌زومی در یونجه وجود دارد (Riday and Brummer, 2002; Bhandari *et al*., 2007; Al Lawati *et al*., 2010; Milić *et al*., 2010). هتروزیس (برتری نتاج نسبت به والدین) تا حدی مسئول افزایش عملکرد در بسیاری از گیاهان زراعی است. اگرچه تنوع ژنتیکی به‌خودی خود برای بیان هتروزیس مورد نیاز است، اما به‌تنهایی کافی نیست و لازم است جمعیت‌های منتخب، قابلیت ترکیب خوبی نیز داشته باشند (Scotti and Brummer, 2010).

برآورد ارزش ژنتیکی گیاهان پایه از لاین‌های خودبارور شده کار ساده‌ای نیست (Panella and Lorenzetti, 1966). اثرات منفی خودباروری در یونجه در تحقیقات متعددی ثابت شده است. خودباروری در یونجه باعث کاهش سریع بنیه گیاه (ویگور) و کاهش تولید بذر می‌شود. در بسیاری از موارد، از دست رفتن باروری بسیار شدید بوده و رسیدن به نسل سوم خودباروری به سختی امکان‌پذیر می‌شود. به‌علاوه بازگشت بنیه گیاه درگرده‌افشانی آزاد در تمام موارد یکسان نیست. خودگرده افشانی در نسل‌های پیشرفته اتوتتراپلوئیدها باعث تولید اینبردهایی می‌شود که در مقایسه با نسل‌های آزادگرده افشان، به دارا بودن نسبت بالاتری از گامت‌های هموزیگوت متحمل‌تر هستند (Panella and Lorenzetti, 1966)، بنابراین وقتی برای نسل‌های اینبرد پیشرفته، امکان گرده افشانی آزاد وجود داشته باشد، فقط تا حدودی بازگشت بنیه گیاهی امکان‌پذیر خواهد شد. از دست رفتن بنیه گیاه به‌دلیل خویش‌آمیزی (اینبریدینگ) در ارقام با زمینه ژنتیکی مختلف، متفاوت است. در شرایط طبیعی مقداری خویش‌آمیزی در کلیه جمعیت‌ها اتفاق می‌افتد، اما در ارقام با زمینه ژنتیکی محدود، خویش‌آمیزی با فراوانی بیشتری اتفاق می‌افتد. با توجه به اینکه درجه خاصی از تحمل به خویش‌آمیزی وجود دارد که باعث حفظ شایستگی رقم می‌شود، از دست رفتن بنیه گیاه در چنین شرایطی ممکن است مشهود نباشد (Rotili *et al*., 1999).

سیستم باروری نقش مهمی در تکامل کلون‌های والدی دارد و کارایی نتاج معمولا وابسته به یکدیگر و همچنین وابسته به کارایی کلون‌های مادری است. مک

الیستر (McAllister, 1951) در یک تحقیق رابطه مثبتی بین عملکرد کلون‌های والدی یونجه و عملکرد نتاج S_1 و F_1 آن‌ها گزارش کرد. اختلافات معنی‌دار بین نتاج پلی‌کراس با بالاترین و کمترین میزان عملکرد در چند آزمایش مشاهده شده و گزارش شده است که استفاده از نتاج S_1 برای تشخیص کلون‌های برتر حاصل از نتاج پلی‌کراس رضایت بخش بود (Davis, 1955; Scotti and Brummer. 2010). در تحقیق دیگری نیز گزارش شد که کلون‌های تشکیل شده از نتاج برتر S_1 ، از نظر کلیه صفات گیاهی اندازه‌گیری شده برتر بودند، در حالی که نتاج پلی‌کراس برای ارزیابی ترکیب‌پذیری عمومی کلون‌ها محدودیت داشتند (Davis and Panton, 1962). داونی (Downey, 1962) طی نتیجه متفاوتی گزارش کرد که نتاج با گرده‌افشانی آزاد از نتاج S_1 برای ارزیابی کلون‌های والدی بهتر هستند. همبستگی بالایی بین نمود نتاج خودبارور شده و کلون‌های مادری برای بسیاری از صفات اقتصادی مانند عملکرد، عادات رشد پاییزه، بازگشت پاییزه و بنیه بهاره توسط ویلکوکس (Wilcox, 1962) گزارش شده است. منیری‌فر (Monirifar, 2010) با استفاده از آزمون پلی‌کراس و ارزیابی ترکیب‌پذیری عمومی اکوتیپ‌های یونجه منطقه آذربایجان، والدین مناسبی را برای تولید واریته سنتتیک شناسایی و گزارش کرد.

هدف از این تحقیق ارزیابی اثر خودباروی و درون زادآوری اکوتیپ‌ها و ارقام یونجه، بررسی بازگشت بنیه گیاه در نسل‌های با گرده‌افشانی آزاد و همچنین برآورد ترکیب‌پذیری عمومی اکوتیپ‌ها برای استفاده از هتروزیس در تلاقی‌های آینده بوده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور تجزیه و تحلیل، مقایسه نسل‌های خودبارو شده، مقدار پس‌روی خویش‌آمیزی، برگشت بنیه گیاه در نسل‌های با گرده‌افشانی آزاد و همچنین برآورد ترکیب‌پذیری عمومی بین خانواده‌های نسل‌های دوم خودبارور شده (S_2) اکوتیپ‌های یونجه از مناطق مختلف آب و هوایی ایران و دو رقم خارجی (در مجموع ۱۰ رقم و اکوتیپ) (جدول ۱) انجام شد. خودباروری نسل‌های مختلف، گرده‌افشانی آزاد و ارزیابی نسل‌ها برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی صفات مورد نظر طی دو سال (۱۳۹۳ و ۱۳۹۴) در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در کرج واقع در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۸۳ دقیقه شمالی و ۵۱ درجه و یک دقیقه طول شرقی انجام و صفات عملکرد ماده خشک و ارتفاع بوته اندازه‌گیری شدند. اکوتیپ‌های یونجه انتخاب شده برای خودباروری از اکوتیپ‌های با خصوصیات مطلوب زراعی و عملکرد بودند و از مناطق سرد و معتدله تا گرم و معتدله با تفاوت‌هایی از نظر الگوی خواب پاییزه، سرعت رشد مجدد و نسبت برگ به ساقه انتخاب شدند. پس از کشت جمعیت اولیه در مزرعه در سال ۱۳۸۹ و استقرار گیاهان در بهار، قبل از خودباروری گیاهان، از هر اکوتیپ و رقم، عملکرد علوفه تر چین اول برای انتخاب بوته‌های برتر ثبت شد. چین‌برداری در مرحله ۱۰ درصد گل‌دهی انجام و عملکرد علوفه تر و خشک تک بوته و طول ساقه اصلی، برای انتخاب گیاهان برتر اندازه‌گیری شدند. خودگشنی به‌صورت دستی و در زیر حفاظ توری روی بوته‌های انتخابی در فصل بهار و تابستان انجام شد. برای بررسی گیاهان نسل اول خودباروری (S_1)، گیاهان S_1 در سال ۱۳۹۰ کشت شدند و بعد از استقرار بوته‌ها، در بهار صفات عملکرد علوفه تر و خشک تک بوته و طول ساقه اصلی اندازه‌گیری شده و بوته‌های برتر از بین آن‌ها انتخاب شد. خودباروری گیاهان S_1 انتخابی مانند سال قبل اجرا و ارزیابی گیاهان نسل دوم خودباروری (S_2) در سال ۱۳۹۱ انجام شد و با همین رویه تولید نتاج نسل S_3 صورت گرفته و لاین‌های اینبرد نسبی برتر انتخاب شدند.

فامیل‌های برتر نسل‌های خودبارور شده

(S_1، S_2 و S_3) از جمعیت اکوتیپ‌ها از مناطق مختلف ایران و رقم خارجی، منشأ گرفته از خودباروری، برای تولید نتاج با گرده‌افشانی آزاد (OP_1، OP_2 و OP_3) در مزارع ایزوله در سال ۱۳۹۱-۱۳۹۳ در مزرعه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج کشت شدند.

جدول ۱- نام و منشاء اکوتیپ‌های یونجه مورد ارزیابی

Table 1. Name and origin of alfalfa ecotypes

اکوتیپ‌های یونجه Alfalfa ecotypes		خواب پاییزه Autumn dormancy		منشاء Origin	
Bami	بمی	Non dormant	بدون خواب	بومی- گرمسیری	L-W
Ghahavand	قهاوند	Dormant	دارای خواب	بومی- سردسیری	L-C
Kozare	کوزره	Dormant	دارای خواب	بومی- سردسیری	L-C
Legend	لجند	Dormant	دارای خواب	خارجی- سردسیری	E-C
Mohajeran	مهاجران	Dormant	دارای خواب	بومی- سردسیری	L- C
Nik Shahri	نیک‌شهری	Non dormant	بدون خواب	بومی- گرمسیری	L- W
Rahnani	رهنانی	Dormant	دارای خواب	بومی- معتدل	L- T
Sequel	سکوئل	Non dormant (Semi dormant)	بدون خواب (نیمه خواب)	خارجی- معتدل	E- T
Silvana	سیلوانا	Dormant	دارای خواب	بومی- سردسیری	L- C
Yazdi	یزدی	Non dormant	بدون خواب	بومی- گرمسیری	L- W

*L: Landrace; E: Exotic; C: Cold region; T: Temperate; W: Warm region

برای مقایسه نسل‌های خودبارو شده و گرده‌افشانی آزاد، آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار به‌صورت مزرعه‌ای اجرا شد. فاصله بین بلوک‌ها یک متر در نظر گرفته شد و هر کرت شامل چهار ردیف کاشت دو متری با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر بود. فاصله بوته‌ها روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در اوایل مهر ۱۳۹۲، بعد از رشد کافی بوته‌های نسل‌های خودبارور شده و گیاهان گرده‌افشانی آزاد شده در گلدان‌های قابل احیا در گلخانه، به مزرعه انتقال داده شده و در ردیف‌های مورد نظر کشت شدند. عملکرد ماده خشک و ارتفاع بوته در بهار و تابستان ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ اندازه‌گیری شدند. هر برداشت (چین) در مرحله ۱۰ تا ۲۰ درصد گلدهی از دو خط وسط هر کرت آزمایشی پس از حذف ردیف‌های حاشیه انجام شده و عملکرد علوفه‌تر محاسبه شد. برای اندازه‌گیری میزان ماده خشک و عملکرد ماده خشک، نمونه‌های تر از بوته‌های هر کرت برداشت و در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشکانده شدند. مجموع میانگین عملکرد در هر چین (چهار چین در هر سال) در هر تکرار به‌عنوان عملکرد کل ماده خشک در نظر گرفته شد. ارتفاع بوته‌ها نیز همزمان با برداشت در هر چین اندازه‌گیری شد. برای این کار ارتفاع پنج بوته دو ردیف وسط هر کرت آزمایشی از سطح زمین تا نوک گل آذین با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شده و میانگین آن‌ها به‌عنوان ارتفاع بوته‌ها در هر کرت در هر تکرار ثبت شد. ترکیب‌پذیری عمومی از اختلاف بین میانگین هر اکوتیپ با میانگین کل آن جمعیت محاسبه شد.

به‌منظور ارزیابی معنی‌دار بودن تفاوت بین اکوتیپ‌ها، نسل و دو سال آزمایش و برهمکنش آن‌ها از نظر دو صفت مورد نظر، تجزیه واریانس مرکب برای دو سال بر اساس طرح فاکتوریل انجام شد. قبل از انجام هر تجزیه، فرضیات تجزیه واریانس در خصوص داده‌های آزمایش و لزوم تبدیل داده‌ها نیز بررسی شد. در ابتدا نرمال بودن خطاهای آزمایشی داده‌های اندازه‌گیری شده با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و سپس همگنی واریانس درون تیمارها با استفاده از نرم افزار

SAS Ver. 9.2 بررسی و تائید شد. تجزیه واریانس با استفاده از برنامه SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار فیشر (FLSD: Fisher's difference significant least) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه مرکب نسل‌های خودباروری و آزاد گرده‌افشان در دو سال برای صفات عملکرد علوفه خشک و ارتفاع بوته نشان داد که بین اکوتیپ‌ها، نسل‌ها و سال‌ها برای هر دو صفت در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. برهمکنش‌های دوگانه اکوتیپ در نسل، اکوتیپ در سال و نسل در سال برای صفت عملکرد علوفه خشک تفاوت بسیار معنی‌داری را نشان دادند. برهمکنش نسل در سال برای ارتفاع بوته تفاوت بسیار معنی‌داری را نشان داد. برهمکنش سه‌گانه اکوتیپ در نسل در سال نیز فقط برای عملکرد علوفه خشک تفاوت بسیار معنی‌داری را نشان داد و برای صفت ارتفاع بوته تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با توجه به اینکه عملکرد علوفه خشک با صفات ارتفاع بوته و تعداد ساقه در بوته همبستگی دارد، صفات دیگری از جمله تعداد ساقه در بوته می‌تواند باعث تفاوت معنی‌دار در برهمکنش بین اکوتیپ‌ها، نسل‌ها و سال‌ها برای صفت عملکرد علوفه خشک شود. با توجه به معنی‌دار شدن برهمکنش اکوتیپ در نسل در سال برای عملکرد علوفه خشک، مقایسه میانگین این صفت برای هر اکوتیپ و نسل و سال انجام شد (جدول ۲). بر اساس میانگین کل ژنوتیپ‌ها، نسل‌های آزاد گرده‌افشان عملکرد بالاتری نسبت به نسل‌های خود بارور شده داشتند. در بین اکوتیپ‌ها، نسل‌ها و سال‌های آزمایش، اکوتیپ‌های نیک‌شهری (۲۲/۸۹ تن در هکتار)، قهاوند (۲۲/۶۵ تن در هکتار) و یزدی (۲۲/۶۵ تن در هکتار) در نسل OP_1 سال ۱۳۹۴ بیشترین عملکرد علوفه خشک را داشتند (جدول ۲). در سال ۱۳۹۳ نیز اکوتیپ‌های قهاوند، نیک‌شهری و مهاجران (به‌ترتیب ۱۸/۳۲، ۱۸/۲۶، ۱۸/۲۵ تن در هکتار) بیشترین عملکرد علوفه خشک را در نسل OP_1 داشتند (جدول ۲). مقایسه میانگین نسل‌ها در دو سال نشان داد که در مجموع، نسل OP_1 بیشترین و نسل S_2 کمترین عملکرد علوفه خشک را داشتند. نسل OP_1 به عنوان نسل صفر خودباروری S_0 در نظر گرفته شد. پس‌روی خویش‌آمیزی نسل‌ها در مقایسه با OP_1 به صورت درصد کاهش در عملکرد علوفه خشک برآورد شد. به نظر می‌رسد که علت بیشتر بودن عملکرد علوفه خشک در سال ۱۳۹۴ در مقایسه با ۱۳۹۳، استقرار بهتر بوته‌ها در سال ۱۳۹۴ بود. بیشترین میزان پس‌روی در نسل دوم خودباروری مشاهده شد (جدول ۳)، بطوریکه عملکرد علوفه خشک نسل S_2 نسبت به نسل OP_1 (S_0) به ترتیب در دو سال ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴، کمترین میزان را داشتند (۴۴/۷ و ۵۴/۵ درصد).

عملکرد علوفه خشک در نسل S_3 نیز از نسل S_2 برتر بود (جدول ۲). عملکرد علوفه خشک نسل S_3 در سال‌های ۱۳۹۳و ۱۳۹۴ به‌ترتیب ۹/۲۰ و ۱۶/۶۷ تن در هکتار و در نسل S2 به‌ترتیب ۷/۵۲ و ۱۱/۷۱ تن در هکتار بود. علت این موضوع می‌تواند این باشد که در نسل S_2 بسیاری از گیاهانی که ضعیف بودند و خودبارور شدند، بذری تولید نکردند و فقط گیاهان قوی‌تر S_2 بذر کافی برای نسل سوم تولید کردند. این نتایج با یافته‌های پانلا و لورنزتی (Panella and Lorenzetti, 1966) نیز مطابقت داشت. از طرف دیگر، نسل OP_2 که انتظار می‌رفت عملکرد بالایی داشته باشد، کاهش معنی‌داری در عملکرد علوفه خشک، نسبت به نسل OP_1 نشان داد (جدول ۳). این نتایج نشان می‌دهد که بازگشت بنیه در لاین‌های خودبارور شده یونجه با یک نسل دگرگرده افشانی امکان پذیر نیست. دمارلی (Demarly, 1963) گزارش داد که تمرکز روی گامت‌های هموزیگوس در نسل S_1 می‌تواند دلیل کاهش بنیه گیاهان S_2 و OP_2 باشد، در

جدول ۲- میانگین عملکرد علوفه خشک (تن در هکتار) نسل‌های آزاد گرده‌افشان و خودبارور اکوتیپ‌های یونجه

Table 2. Mean of dry forage yield (t.ha^{-1}) of open-pollinated (OP) and selfed (S) generations of alfalfa ecotypes

اکوتیپ‌های یونجه Alfalfa ecotypes		سال Year ۱۳۹۳ 2014 OP1	OP2	OP3	S1	S2	S3	سال Year ۱۳۹۴ 2015 OP1	OP2	OP3	S1	S2	S3
Bami	بمی	16.02	13.78	8.87	10.51	7.15	8.83	21.88	15.33	16.57	15.84	12.80	17.76
Ghahavand	قهاوند	18.32	14.69	10.00	9.76	6.40	8.08	22.65	18.61	18.24	15.80	12.76	17.72
Kozare	کوزره	17.54	13.22	7.99	10.48	7.12	8.80	20.33	16.96	16.40	15.35	12.31	17.27
Legend	لجند	16.79	13.28	9.21	14.03	10.67	12.35	22.01	17.38	16.63	15.04	12.00	16.96
Mohajeran	مهاجران	18.25	13.85	9.31	9.82	6.46	8.14	21.20	18.72	18.03	12.98	9.94	14.90
Nik Shahri	نیک‌شهری	18.26	16.47	11.14	9.77	6.41	8.09	22.89	19.91	18.60	15.49	12.45	17.41
Rahnani	رهنانی	15.63	15.53	8.51	10.32	6.96	8.64	19.04	19.10	17.51	15.60	12.56	17.52
Sequel	سکوئل	14.99	11.79	8.77	8.79	5.43	7.11	19.95	17.82	16.32	10.82	7.78	12.74
Silvana	سیلوانا	16.18	15.05	10.99	10.99	7.63	9.31	22.21	18.96	17.80	15.44	12.40	17.36
Yazdi	یزدی	16.20	16.08	14.37	14.37	11.01	12.69	22.65	21.04	19.90	15.11	12.08	17.04
Mean	میانگین	16.82	14.37	9.92	10.88	7.52	9.20	21.48	18.30	17.60	14.75	11.71	16.67
LSD (0.05)		1.87											
LSD (0.01)		2.46											

مقادیر LSD بر اساس برهمکنش معنی‌دار نسل در سال در اکوتیپ LSD values based on significant interaction of generation × year × ecotype

حالی که انتخاب اجتناب‌ناپذیر برای باروری و بنیه در نسل S_2 منجر به انتخاب گیاهانی با پتانسیل تولید گامت‌های با نسبت هتروزیگوسیتی بیشتر می‌شود که علت برتری بنیه S_3 و OP_3 است.

با توجه به معنی‌دار بودن صفت ارتفاع بوته در برهمکنش نسل در سال و غیر معنی‌دار بودن سایر برهمکنش‌ها، میانگین نتایج برهمکنش نسل در سال و میانگین اکوتیپ‌ها برای این صفت در ادامه ارائه می‌شود. همانطور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود بیشترین ارتفاع بوته در هر دو سال در نسل OP_1 و کمترین ارتفاع بوته نیز در نسل S_2 خودباوری مشاهده شد. با توجه به همبستگی عملکرد علوفه با ارتفاع بوته، همین روند نیز برای ارتفاع بوته مشاهده شد.

جدول ۳- عملکرد علوفه خشک نسل‌های آزاد گرده‌افشان و خودگرده‌افشان یونجه در مقایسه با OP_1 (درصد)

Table 3. Dry forage yield of open and self pollinated generations of alfalfa compared to OP_1 (%)

نسل‌های یونجه Alfalfa generations	سال ۱۳۹۳ 2014	سال ۱۳۹۴ 2015
S_1	64.71	68.65
S_2	44.73	54.50
S_3	54.72	77.58
OP_1 (S_0)	100	100
OP_2	85.20	85.20
OP_3	58.96	81.93

جدول ۴- میانگین ارتفاع بوته (سانتی‌متر) نسل‌های آزاد گرده‌افشان و خودگرده‌افشان یونجه

Table 4. Mean of plant height (cm) of open and self-pollinated generations of alfalfa

نسل‌های یونجه Alfalfa generations	۱۳۹۳ 2014	۱۳۹۴ 2015
OP_1	96.2	97.2
OP_2	85.1	78.6
OP_3	85.4	83.0
S_1	78.1	75.9
S_2	72.1	73.0
S_3	79.3	68.2
LSD (0.05)	3.75	
LSD (0.01)	4.95	

مقادیر LSD بر اساس برهمکنش معنی‌دار نسل در سال

LSD values based on significant interaction of generation × year

جدول ۵- میانگین ارتفاع بوته (سانتی‌متر) اکوتیپ‌های یونجه

Table 5. Mean of plant height (cm) of alfalfa ecotypes

Alfalfa ecotypes	اکوتیپ‌های یونجه	۱۳۹۳ 2014	۱۳۹۴ 2015	میانگین Mean
Bami	بمی	82.1	86.4	84.2
Ghahavand	قهاوند	81.4	85.6	83.5
Kozare	کوزره	79.4	81.1	80.2
Legend	لجند	73.2	81.4	77.3
Mohajeran	مهاجران	81.8	84.3	83.1
Nik Shahri	نیک‌شهری	79.6	81.8	80.7
Rahnani	رهنانی	78.5	81.2	79.8
Sequel	سکوئل	76.8	77.2	77.0
Silvana	سیلوانا	80.8	80.3	80.5
Yazdi	یزدی	79.7	85.0	82.4
LSD (0.05)		4.85		
LSD (0.01)		6.37		

مقایسه میانگین ارتفاع بوته اکوتیپ‌های یونجه نشان داد که اکوتیپ بمی بیشترین (۸۴/۲ سانتی‌متر) و سکوئل، لجند و رهنانی کمترین (به‌ترتیب ۷۷/۰، ۷۷/۳ و ۷۹/۸ سانتی‌متر) ارتفاع بوته را داشتند (جدول ۵).

برآورد ترکیب‌پذیری عمومی برای عملکرد علوفه خشک در دو سال برای نسل‌های آزاد گرده‌افشان نشان داد که اکوتیپ‌های یزدی، سیلوانا، نیک‌شهری و قهاوند ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و معنی‌داری را برای عملکرد علوفه خشک در نسل OP_2 در هر دو سال داشتند. همین وضعیت برای ترکیب‌پذیری عمومی در نسل OP_3 مشاهده شد (جدول ۶). بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی برای اکوتیپ‌های یزدی و نیک شهری بدست آمد. این اکوتیپ‌ها از مناطق گرم و معتدل با نمره خواب متفاوت نسبت به سایر اکوتیپ‌ها که از مناطق سرد انتخاب شده‌اند هستند، بنابراین به نظر می‌رسد که تلاقی اکوتیپ‌هایی با تفاوت جغرافیایی بیشتر و نمره خواب متفاوت، در بهبود عملکرد ارقام سینتتیک یا هیبریدهای یونجه از قبیل هیبریدهای آزاد و یا شبه هیبریدها موثرتر خواهد بود.

جدول ۶- ترکیب‌پذیری عمومی اکوتیپ‌های یونجه در دو نسل آزاد گرده‌افشان برای عملکرد علوفه خشک (تن در هکتار)

Table 6. General combining ability of alfalfa ecotypes in two generations of open pollination for dry forage yield ($t.ha^{-1}$)

		۱۳۹۳ 2014		۱۳۹۴ 2015	
Alfalfa ecotypes	اکوتیپ‌های یونجه	OP_2	OP_3	OP_2	OP_3
Bami	بمی	-0.59	-1.05	-2.97	-1.03
Ghahavand	قهاوند	0.32	0.08	0.31	0.64
Kozare	کوزره	-1.15	-1.93	-1.34	-1.2
Legend	لجند	-1.09	-0.71	-0.92	-0.97
Mohajeran	مهاجران	-0.52	-0.61	0.42	0.43
Nik Shahri	نیک‌شهری	2.1	1.22	1.61	1
Rahnani	رهنانی	1.16	-1.41	0.8	-0.09
Sequel	سکوئل	-2.58	-1.15	-0.48	-1.28
Silvana	سیلوانا	0.68	1.07	0.66	0.2
Yazdi	یزدی	1.71	4.45	2.74	2.3

نتیجه‌گیری

نتایج سال‌های خودباروری (S_1, S_2, S_3) نشان داد که اکوتیپ‌های یونجه نسبت به خودگشنی واکنش‌های متفاوتی داشتند. شدت کاهش در صفات اندازه‌گیری شده در نسل اول خودباروری بسیار بیشتر از نسل دوم بوده و در نسل سوم خودباوری، میزان کاهش صفات بسیار کمتر بود. کاهش معنی‌دار در پس‌روی خویش‌آمیزی با انتخاب گیاهان از نظر بنیه گیاهی (ویگور) در طول سه نسل خودگشنی توسط روتیلی (Rotili, 1976) نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد که انتخاب عمدی گیاهان با بنیه قوی (Vigorous) در نسل‌های خودگشنی، باعث افزایش فراوانی ژن‌های مطلوب و مجموعه ژنی (linkat ها) شده و ارزش اصلاحی گیاهان والدی گزینش موفق را امکان پذیر می‌کند (Scotti, *et al.*, 2000). خودباروری باعث پس‌روی شدید در یونجه، به خصوص عملکرد علوفه نسبت به ارتفاع بوته شد. پس‌روی بنیه گیاه به صورت افزایشی از S_1 تا S_3 مشاهده نشد. به نظر می‌رسد که بازگشت بنیه گیاهی در S_3 به علت انتخاب اجتناب ناپذیر در S_2 برای باروری و بنیه گیاهی باشد، بطوری‌که

در نسل S_2 بسیاری از بوته‌هایی که ضعیف بودند و خودبارور شدند، بذری تولید نکردند، بنابراین فقط بوته‌های قوی‌تر S_2 بذر کافی برای نسل سوم تولید کردند. بر این اساس نتاج S_3 فقط از بهترین بوته‌های S_2 تولید شدند. نسل OP_2 که انتظار می‌رفت عملکرد بالایی داشته باشد، کاهش معنی‌داری در عملکرد علوفه خشک نسبت به نسل OP_1 نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد که بازگشت بنیه گیاهی در لاین‌های خودبارور شده یونجه با یک نسل دگرگرده افشانی امکان پذیر نیست. بازگشت بنیه گیاهی با گرده افشانی آزاد در تلاقی‌های OP_2 بیشتر از OP_3 بدست می‌آید.

برآورد ترکیب‌پذیری عمومی برای عملکرد علوفه خشک در دو سال برای نسل‌های آزاد گرده‌افشان نشان داد که اکوتیپ‌های یزدی، سیلوانا، نیک‌شهری و قهاوند ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و معنی‌داری را برای عملکرد علوفه خشک در نسل OP_2 در هر دو سال داشتند. همین وضعیت برای ترکیب‌پذیری عمومی در نسل OP_3 مشاهده شد. بطور کلی بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی برای اکوتیپ‌های یزدی و نیک‌شهری بدست آمد. این اکوتیپ‌ها از مناطق گرم و معتدل با نمره خواب متفاوت نسبت به سایر اکوتیپ‌ها که از مناطق سرد انتخاب شده‌اند هستند، بنابراین به نظر می‌رسد که تلاقی اکوتیپ‌هایی با تفاوت جغرافیایی بیشتر و نمره خواب متفاوت، در بهبود عملکرد ارقام سینتتیک یا هیبریدهای یونجه از قبیل هیبریدهای آزاد و یا شبه هیبریدها موثرتر خواهد بود.

سپاسگزاری

از بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، برای حمایت و در اختیار قرار دادن امکانات برای اجرای این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

References

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.

Bhandari, H.S., C.A. Pierce, L.W. Murray and I.M. Ray. 2007. Combining abilities and heterosis for forage yield among high yielding accessions of the alfalfa core collection. Crop Sci. 47: 665-673.

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

Davis, R. L. 1955. An evaluation of S1 and polycross progeny testing. Agron. J. 47: 572-575.

Davis, R.L. and C.A. Panton. 1962. Combining ability in alfalfa. Crop Sci. 2: 35-37.

Demarly, Y. 1963. Genetiques des tetraploids at amelioration des plantes. These Fac. Sci. Ann. Ammelior Plantes. 13: 307-400.

Downey, R.K. 1962. Progeny testing and the formation of synthetic varieties of alfalfa. Diss. Abs. 22: order No. 62–162: 2529–30. *In:* Plant Breeding Abs. 417–1963.

Hill, R.R., Jr. J.S. Shenk and R.F. Barnes. 1988. Breeding for yield and quality. P. 809-825. *In:* Hanson, A.A, D.K. Barnes and R.R. Hill Jr. (Eds.). Alfalfa and Alfalfa Improvement. Agronomy Monographs. 29. ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI. USA.

McAllister, D. R. 1951. The combining ability of selected alfalfa clones as related to the self fertility of the

clones, their F_1 and F_2 progenies. Iowa State Coll. J. Sci. 25: 283-284.

Michaud, R., W.F. Lehman and M.D. Rumbaugh. 1988. World distribution and historical development. 25-91. *In:* Hanson, A.A, D.K. Barnes and R.R. Hill Jr. (Eds.). Alfalfa and Alfalfa Improvement. Agronomy Monographs. 29. ASA, CSSA and 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. 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. Springer. New York. USA.

Monirifar, H. 2010. Half-sib progeny test for selection of best parents for development of a synthetic variety of alfalfa. Iran. J. Crop Sci. 12 (1): 66- 75. (In Persian with English abstract).

Panella, A. and F. Lorenzetti, 1966. Selfing and selection in alfalfa breeding programs. Euphytica, 15: 248-257.

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

Rotil, P. 1976. Performance of diallel crosses and second generation synthetics of alfalfa derived from partly inbred parents. Π. Earliness and mortality. Crop Sci. 17: 245-248

Rotili, P., G. Gnocchi, C. Scotti and L. Zannone. 2001. Some Aspects of Breeding Methodology in Alfalfa. Institute Sperimentale Perle Colture Foraggere-V.le Piacenza, 29-26900, Lodi, Italy.

Scotti, C. and E.C. Brummer. 2010. Creation of Heterotic Groups and Hybrid Varieties .*In:* Huyghe, C. (Ed.). Sustainable use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding. 509- 518.

Scotti, C., F. Pupilli, S. Salvi and S. Ariconi, 2000. Variation in vigor and in RFLP-estimated heterozygosity by selfing tetraploid alfalfa: new perspective for the use of selfing in alfalfa breeding. Theor. Appl. Genet. 101: 120-125.

Sriwatanapongse, S. and C.P. Wilsie. 1968. Intra- and inter variety crosses of *Medicago sativa* L. and *Medicago falcata* L. Crop Sci. 8: 465- 466.

Tysdal, H.M., T.A. Kiesselbach and H.L. Westover. 1942. Alfalfa Breeding. Research Bulletin: Bulletin of the Agricultural Experiment Station of Nebraska. No. 124. Nebraska, USA.

Veronesi, F., C. Huyghe and I. Delgado. 2006. Lucerne Breeding in Europe: Results and Research Strategies for Future Developments. *In:* Lloveras, J., A. Gonzalez-Rodriguez, O. Vazquez-Yanez, J. Pineiro, O. Santamaria, L. Olea and M.J. Poblaciones (Eds.) Sustainable Grassland Productivity. Proceedings on the 21st General Meeting of the European Grassland Federation. 3-6 April 2006, Badajoz, Spain.

Wilcox, J.R. 1962. Combining ability of nine alfalfa clones and reciprocal differences among their hybrids. Diss. Abs. 22: order No. 61-6191, 2555. *In:* Plant Breeding Abs. 418- 1963.

Assessment of combining ability and comparison of selected selfed and open pollinated generations clones of alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes

Ghotbi, V.[1] and A. Moghaddam[2]

ABSTRACT

Ghotbi, V. and A. Moghaddam. 2021. Assessment of combining ability and comparison of selected selfed and open pollinated generations clones of alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes. **Iranian Journal of Crop Sciences. 22(4): 365-375. (In Persian).**

This study was conducted to quantitatively evaluate selfed (S_1, S_2 and S_3) and open pollinated (OP1, OP_2 and OP_3) generations of alfalfa in terms of inbreeding depression and general combining ability of S2 families of alfalfa ecotypes. Selfing of selected plants to produce three generations of S1, S2 and S3 generations were performed under the field conditions and the clones of each selfed- generations were used for producing of open pollinated- generations. For comparison of dry forage yield and plant height of selfed (S_1, S_2, S_3) and open pollinated (OP_1, OP_2, OP_3) generations randomized complete block design with three replications was employed in 2015 and 2016 growing seasons at Plant and Seed Improvement Institute, Karaj, Iran.. The results revealed significant differences among ecotypes, generations and growing seasons and their two- way and three-way interactions for dry forage yield. Alfalfa ecotypes reacted differently to selfing, and the highest rate of vigor depression was observed in the S1 generation tropical ecotypes. However, vigor recovery observed in all ecotypes with continuing selfing and vigor remarkably increased in S_3 generation. Vigour recovery was observed more in OP_2 than OP_3. The highest general combining ability for dry forage yield observed for Yazdi and Nikshahri ecotypes which are tropical ecotypes. Therefore, crossing of these ecotypes with ecotypes originated from different climatic conditions could be more effective in improvement of forage yield of synthetic and hybrid (semi or free hybrid) varieties in alfalfa.

Key words: Alfalfa, Forage yield, Inbreeding depression, Selfing and Vigour.

Received: April, 2020 Accepted September, 2020

1. Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran (Corresponding author) (Email: v.ghotbi@areoo.ac.ir, vghotbi@spii.ir)

2. Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran