

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

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

ویدا قطبی<sup>۱</sup>، فرهاد عزیزی<sup>۲</sup>، محمد جواد زمانی<sup>۳</sup>، علی مقدم<sup>۴</sup> و افشین روزبهانی<sup>۵</sup>

#### 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 بای پلات. 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، ایف نامحلول در شوینده اسیدی و ایف نامحلول در شوینده خنثی در اینبردهای جزئی انتخاب شده از نسل دوم خودباروری هشت اکوتیپ یونجه بود که در قالب یک طرح تلاقی نیمه دی‌آل اجرا شد. بذرها ۲۸ دورگ نسل F1 همراه با والدین در دو مکان (کرج و اراک) کشت و به مدت دو سال (۱۳۹۴ و 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)، ایف 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 ایف 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: بای پلات، ترکیب‌پذیری عمومی، ترکیب‌پذیری خصوصی، دی‌آل، کیفیت علوفه و یونجه.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۱۰ این مقاله مستخرج از پروژه تحقیقاتی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به شماره مصوب ۰۳-۰۳-۹۲۱۹۵ و شماره فرست 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@areo.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

## 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 منشأ 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 وارث پذیری 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 خوشخوارتر 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 و کیفیت 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 می‌تواند 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 اتوتراپلوئید، 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

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 امکان‌پذیر کردن 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 خودباروری 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<sub>3</sub> همراه با انتخاب تکثیر شدند و بدین طریق والدین دبل کراس 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،

می‌توان عملکرد یونجه را افزایش داد. هیل و بارنز (Hill and Barnes, 1977) برای صفات کیفی علوفه یونجه، وارث‌پذیری عمومی نسبتاً بزرگی برای میزان لیگنین و پروتئین گزارش کردند، ولی برآورد وارث‌پذیری عمومی بسیار پائینی برای قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک و برآورد متوسطی برای ADF و NDF گزارش کردند. در بسیاری از آزمایش‌ها امکان استفاده از اثرات افزایشی و غیرافزایشی شامل برهم‌کنش ژن‌های مکمل مرتبط با توارث پلی‌سومیک برای بهبود عملکرد در یونجه اتوتراپلوئید 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 ژرم پلاسماهای 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 LSR، ADF 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 جمع‌شونده 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

خصوصی و پیش‌بینی گروه‌های هتروتیک را بر اساس نمودار گریکی 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 می‌شود. 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 توأم نشان می‌دهد. در همین رابطه یان و هانت (Yan and Hunt, 2002)، با ارائه روش نمودار دو وجهی برای تفسیر داده‌های مرتبط با روش دی‌آلل در مقاومت به بیماری سوختگی سنبله 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 دی‌آلل 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، لیاف نامحلول در شوینده خنثی، لیاف نامحلول در شوینده اسیدی از طریق تلاقی هشت والد گزینش شده از نسل دوم خودباروری 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 سکونل (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 پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بر مبنای روش دو (II) گریفینگ (Griffing, 1956) و با استفاده از برنامه SAS (Zhang et al. 2005) برای صفات کیفی علوفه شامل، نسبت برگ به ساقه (LSR)، پروتئین خام (CP)، کربوهیدرات‌های محلول در آب (WSC)، خاکستر، لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، لیاف 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

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)

مقادیر ژنوتیپی:  $Y_{ij} - Y_{ii} - \beta_i = \lambda_1 \varepsilon_{i1} \eta_{i1} + \lambda_2 \varepsilon_{i2} \eta_{i2} + \varepsilon_{ii}$   
 ترکیبات بین انتری  $i$  و محک  $j$  برای یک صفت،  $\beta_j$ ؛ میانگین مقادیر تمام ترکیبات با محک  $j$ ،  $\lambda_1$  و  $\lambda_2$ ؛ مقادیر منفرد برای  $PC_1$  و  $PC_2$ ،  $\varepsilon_{i1}$  و  $\varepsilon_{i2}$ ؛ به ترتیب بردار ویژه  $PC_1$  و  $PC_2$  برای انتری  $i$ ،  $\eta_{i1}$  و  $\eta_{i2}$ ؛ به ترتیب مقادیر ویژه  $PC_1$  و  $PC_2$  برای ژنوتیپ محک  $j$  و  $\varepsilon_{ij}$ ؛ 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

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) (United States - Dickey-John Spectroscopy) (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

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

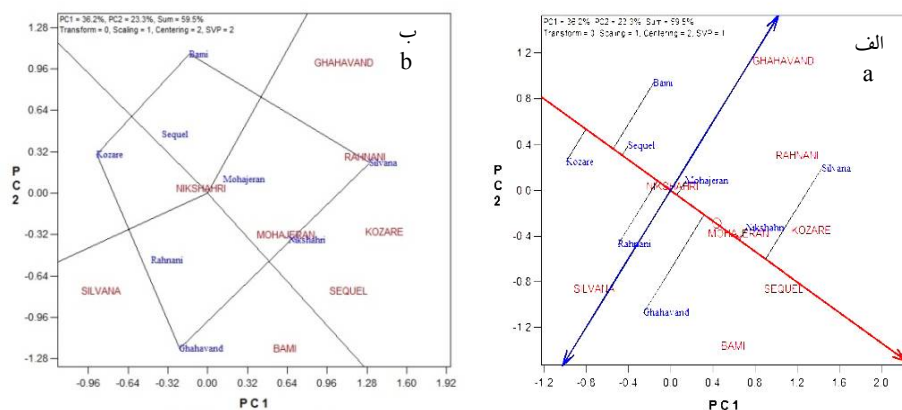
### نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب تلاقی‌های دی آلل 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 دی آلل یک طرفه برای بررسی ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی فراهم بود (نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس خط‌ها برای صفات مورد بررسی تایید شد). تجزیه اسپلیت پلات 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 دی آلل 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 (در سطح 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 دی آلل 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 < نیک شهری < قهاوند < مهاجران < رهنانی < سکونل < 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، سکونل 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، نیک شهری 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



شکل ۱- نمودار دو بعدی داده‌های دی آلل 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'.

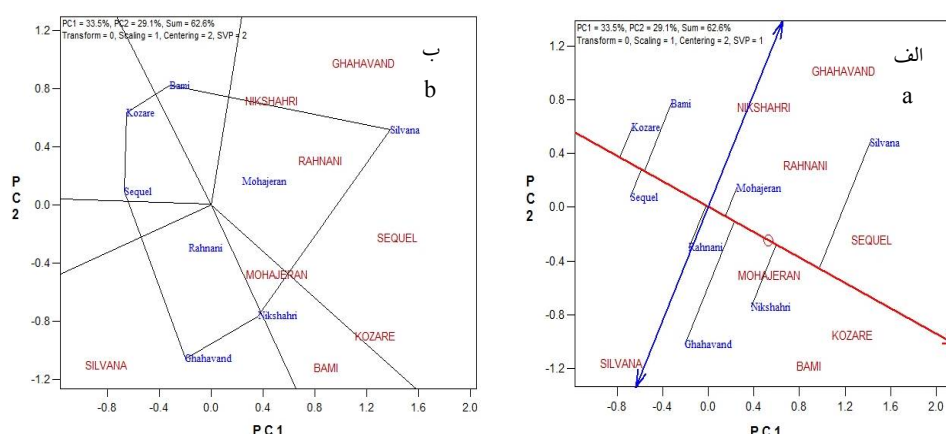
بخش قرار گرفتند، بنابراین ترکیب‌پذیری خوبی برای نسبت برگ به ساقه با هم دارند. همچنین لاین اینبرد جزئی قهواند با محک‌های بمی و سیلوانا در یک بخش دیگر قرار گرفتند و نشان‌دهنده ترکیب‌پذیری خوب این دو لاین با یکدیگر است. با توجه به اینکه لاین سیلوانا با محک قهواند در یک بخش قرار گرفتند و بر عکس (لاین قهواند 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 هترو تیک 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، سکوتل 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 نمی‌تواند به عنوان والدین مورد استفاده قرار گیرند (شکل ۱- ب).

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، ژنوتیپ است که در راس چند وجهی در همان بخش قرار گرفته است. لاین‌هایی که در گوشه‌های چند وجهی قرار گرفته‌اند بهترین ترکیب‌شونده‌ها با محک‌های بخش خودشان و ضعیف‌ترین ترکیب‌شونده 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 قهواند رهنانی، کوزره و مهاجران در یک

نیک شهری، رهنانی، سکوتل و کوزره در یک بخش قرار گرفتند، بنابراین، سیلوانا با این محک‌ها ترکیب پذیری خوبی داشت، هم‌چنین قرار گرفتن لاین قهاوند با محک سیلوانا در بخش دیگر، نشان دهنده ترکیب پذیری بسیار زیاد این اینبردها و هتروتیک بودن هیبرید آن‌ها است. اینبرد نیک شهری با محک مهاجران و بمی در یک بخش قرار گرفته و ترکیب پذیری خوبی را نشان دادند. ژنوتیپ‌های مهاجران و رهنانی در نزدیکی مرکز قرار گرفتند که نشان دهنده ترکیب پذیری ضعیف آن‌ها با تمام محک‌ها است. اینبرد لاین‌های بمی، کوزره و سکوتل هر کدام در راس یک بخش قرار داشتند و محک‌های آن‌ها در بخش‌های دیگری قرار داشتند که ترکیب پذیری پائین این اینبردها را نشان می‌دهد (شکل ۲-ب).

نمودار بای پلات 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 ترکیب پذیری عمومی به صورت؛ سیلوانا < قهاوند < مهاجران < نیک شهری < رهنانی <

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 بای پلات 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 ترکیب پذیری عمومی ژنوتیپ‌ها برای میزان پروتئین خام علوفه به ترتیب به صورت؛ سیلوانا < نیک شهری < قهاوند < مهاجران < رهنانی < سکوتل < بمی < کوزره بود. هم‌چنین لاین‌های اینبرد جزئی سیلوانا و قهاوند ترکیب پذیری خصوصی بالاتری نسبت به سایر ارقام داشتند. هم‌چنین گروه‌های هتروتیک در این شکل به صورت قهاوند، نیک شهری، رهنانی، سکوتل و گروه دوم شامل مهاجران، کوزره، بمی و سیلوانا بود. با توجه به شکل ۲-الف، ژنوتیپ نیک شهری 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،

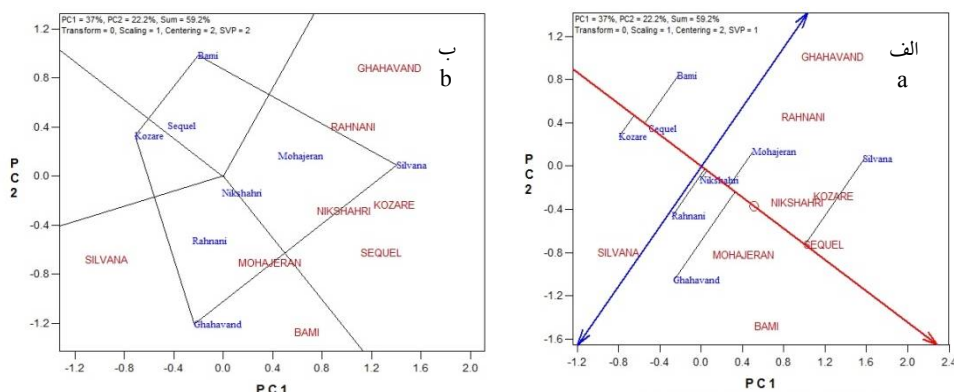


شکل ۲- نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آلل برای میزان پروتئین خام هشت اینبرد جزئی یونجه. الف: نمایش موقعیت لاین‌ها، محک‌ها و میانگین محک‌ها. ب: نمایش چند وجهی و موقعیت لاین‌ها و محک‌ها. حروف کوچک نشان دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان دهنده محک‌ها هستند. موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است

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'.

بخش قرار گرفتند که نشان می‌دهد سیلوانا با این محک‌ها دارای ترکیب‌پذیری خوبی است. از طرف دیگر، 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 به عوض شدن محک واکنش زیادی نشان نمی‌دهد. بعلاوه ترکیب‌پذیری پائینی برای اینبرد لاین‌های بمی و کوزره و سکونل مشاهده شد، چون هر کدام در راس یک بخش قرار داشتند و محک‌های آنها در بخش‌های دیگری بودند.

سکونل < بمی > کوزره بود، یعنی سیلوانا بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی و مثبت را داشت. بهترین لاین‌های اینبرد از نظر ترکیب‌پذیری خصوصی نیز به ترتیب اکوتیب‌های سیلوانا، قهاوند، بمی، رهنانی، مهاجران، کوزره، نیک‌شهری و سکونل 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، سکونل و کوزره و گروه دوم شامل مهاجران، بمی و سیلوانا بودند. محک نیک‌شهری به عنوان 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، سکونل، کوزره در یک



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 نشان‌دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها هستند. موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است.

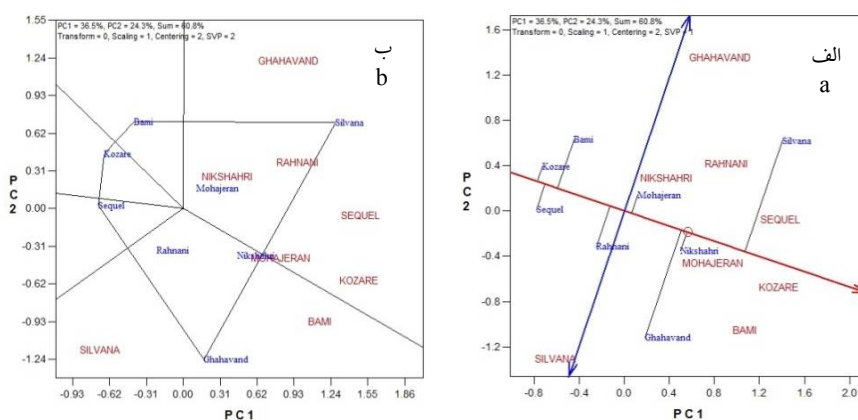
Fig. 3. The GGE Biplot based on eight partially inbred line of alfalfa for WSC (%). A: Average tester coordinates (ATC) view of the lines and testers. B: Polygon view of bi-plot for the lines (small letters) and testers (capital letters) position. Circles shows the position of testers'.

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 به ترتیب سیلوانا ≈ قهاوند < بمی >

نمودار دوبعدی داده‌های دی آلل برای میزان خاکستر علوفه برای اینبرد لاین‌های جزئی یونجه در شکل ۴ ارائه شده است. نمودار بای پلات ۶۰/۸ درصد از واریانس داده‌ها را توجیه می‌کند (شکل ۴-الف و ب). بر اساس شکل ۴-الف، ترتیب لاین‌های اینبرد

رهنانی، سکوتل 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).

رهنانی <سکوتل < مهاجران < نیک شهری < 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، نیک شهری، 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 خاکستر در شکل ۴-ب نشان می‌دهد که اینبرد لاین جزئی سیلوانا و محک قهاوند، نیک شهری،



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 نشان‌دهنده لاین‌ها و حروف بزرگ نشان‌دهنده محک‌ها هستند. موقعیت میانگین محک‌ها با دایره نشان داده شده است.

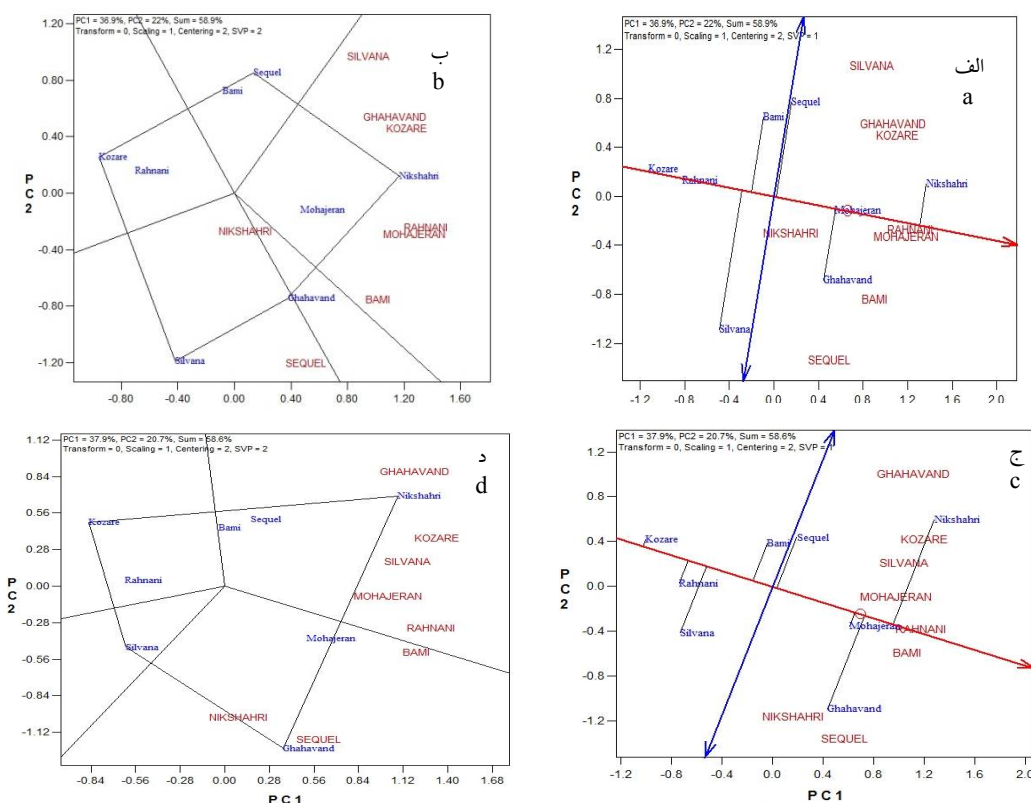
Fig. 4. The GGE Biplot based on eight partially inbred line of alfalfa for Ash (%). A: Average tester coordinates (ATC) view of the lines and testers. B: Polygon view of bi-plot for the lines (small letters) and testers (capital letters) position. Circles shows the position of testers'.

شکل بای پلات ۵- الف-د، به ترتیب ۵۸/۹ درصد و ۵۸/۶ درصد از واریانس داده‌های مربوط به لیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) را توجیه می‌کند. برای این دو شاخص ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی به صورت نیک شهری < مهاجران < قهاوند < سیلوانا < سکوتل < بمی < رهنانی < مهاجران < کوزره برای ADF و برای اکوتیپ‌های نیک شهری < قهاوند < سیلوانا < سکوتل < 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 لیاف نامحلول در

شکل بای پلات ۵- الف-د، به ترتیب ۵۸/۹ درصد و ۵۸/۶ درصد از واریانس داده‌های مربوط به لیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) را توجیه می‌کند. برای این دو شاخص ترتیب لاین‌های اینبرد جزئی از نظر ترکیب‌پذیری عمومی به صورت نیک شهری < مهاجران < قهاوند < سیلوانا < سکوتل < بمی < رهنانی < مهاجران < کوزره است، بنابراین نیک شهری بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و معنی‌دار را برای هر دو شاخص

نیک شهری با این محک‌ها ترکیب‌پذیری خوبی دارد. همچنین ترکیب‌پذیری بالای لاین قهاوند با محک نیک شهری و هتروتیک بودن هیبرید آن‌ها مشاهده شد (شکل ۵-ب). اینبرد سیلوانا با محک سکوتل در یک بخش قرار گرفتند، یعنی این اینبرد لاین‌های جزئی دارای ترکیب‌پذیری خوبی با هم هستند. اینبرد لاین‌های بمی و کوزره، سکوتل 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

شوینده اسیدی، گروه اول سیلوانا قهاوند، کوزره و گروه دوم شامل مهاجران، بمی و نیک شهری، رهنانی، سکوتل و برای میزان لیاف نامحلول در شوینده خشی، گروه اول شامل قهاوند، رهنانی، سیلوانا، کوزره و مهاجران و گروه دوم شامل بمی، سکوتل و نیک شهری 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 نیک شهری و محک‌های سیلوانا، قهاوند، کوزره رهنانی، مهاجران و بمی در یک بخش قرار گرفتند، یعنی لاین



شکل ۵- نمودار دو بعدی داده‌های دی‌آلل برای میزان لیاف محلول در شوینده اسیدی (الف و ب) و میزان لیاف نامحلول در شوینده خشی (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 نشان‌دهنده 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'.

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

نتایج تجزیه دی آلل نشان داد که صفات کیفی بررسی شده توسط عمل افزایشی ژن ها، از طریق افزایش تجمعی فراوانی آلل های مطلوب کنترل می شوند و در نتیجه اثرات GCA معنی دار بود. اثرات غیر افزایشی ژن ها نیز از طریق برهم کنش ژن های مکمل ناشی از اثرات معنی دار 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 یونجه هایی از مناطق آب و هوایی مختلف، هیبریدهای برتری را از صفات کیفی علوفه تولید کردند. نتایج تجزیه دی آلل 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 پلی ژنیک 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 ژن های غیر افزایشی نیز مشاهده شد. وجود عمل ژن های غیر افزایشی در صفات کیفی علوفه می تواند با اثرات تجمعی آلل های غالب متفاوت

توضیح داده شود که در سطح بین جمعیت ها اجازه ظهور می یابد (Riday and Brummer, 2002). روتیلی و زانون (Rotili and Zannone, 1974) در خصوص عملکرد ماده خشک گزارش دادند که بزرگی واریانس برای اثرات ترکیب پذیری عمومی به طور قابل ملاحظه ای بزرگتر از اثرات ترکیب پذیری خصوصی بود، یعنی ترکیب پذیری عمومی همیشه بسیار معنی دار بود، در حالیکه ترکیب پذیری خصوصی در سطح  $S_0$  و  $S_1$  غیر معنی دار و در سطح  $S_2$  معنی دار بود. در این تحقیق نیز مشابه نتایج روتیلی و زانون (Rotili and Zannone, 1974)، ترکیب پذیری عمومی و خصوصی معنی داری از تلاقی والدین نسل  $S_2$  برای صفات کیفی علوفه به دست آمد. تفاوت ها در اثرات GCA و SCA بین ژنوتیپ ها و جمعیت ها 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 معنی داری در تلاقی های بین ژنوتیپ ها و جمعیت های مختلف ژنتیکی یونجه در تحقیقات زیادی گزارش شده است (Riday and Brummer, 2002; Al Lawati *et al.*, 2010).

نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیب بین دو اینبرد نسبی از خانواده های نسل دوم خودباروری ( $S_2$ ) از مناطق مختلف جغرافیایی، بهترین هیبریدها را از نظر LSR، CP و ASH داشتند، اما تلاقی هایی 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 معنی دار مثبتی برای LSR، CP و ASH داشت، به نظر می رسد که تلاقی با این اینبرد صفات کیفی مطلوب بالایی را بوجود می آورد. به دلیل 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 معنی دار برای کیفیت علوفه امکان استفاده از

### 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.

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.

### 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 Jihad 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. Deghani, 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.

- 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. Milošević 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. Miklič, D. Karagić, J. Gvozdanović–Varga, S. Petrović and J. Boćanski, 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. Szlavnic. 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.

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

Ghotbi, V.<sup>1</sup>, F. Azizi<sup>2</sup>, M. J. Zamani<sup>3</sup>, A. Moghadam<sup>4</sup> and A. Roozbehani<sup>5</sup>

### 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 combining 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@areeo.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