



<https://tbj.ui.ac.ir/?lang=en>

Taxonomy and Biosystematics

E-ISSN: 2322-2190

Document Type: Research Paper


Vol. 16, Issue 1, No.58, (2024), P: 15-32

Received: 28/05/2024 Accepted: 13/07/2024

Evaluation of Phenotypic Diversity in Some Populations of Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) with Different Origins Under Urmia Climate

Hossein Abdi

Ph.D. Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
ho.abdi@urmia.ac.ir

Iraj Bernousi * 

Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
i.bernosi@urmia.ac.ir

Rezgar Zakeri

M.Sc. Graduated, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
rezgarzakeri119@yahoo.com

Hossein Hatamzadeh

Researcher, Dryland Agricultural Research Institute (DARI), Shirvan Branch, North Khorasan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Shirvan, Iran
h.hatamzadeh@areeo.ac.ir

Abstract

Alfalfa (*Medicago sativa L.*), one of the most productive and nutritious forage crops, is grown worldwide for hay, silage and pasture. In order to study the phenotypic variation, an experiment was conducted on 40 alfalfa population in a randomized complete block design with three replications during 2018 in a research farm of Urmia University. Traits including plant height, re-growth rate, No. of node, node length, No. of stem, No. of floret per racemes, racemes length, No. of pod per racemes, leaf fresh weight, leaf dry weight, stem fresh weight, stem dry weight, total fresh weight, total dry weight, leaf dry weight/stem dry weight, and total dry weight/total fresh weight were measured. The results showed a significant variation in alfalfa populations, so that for most of the traits, significant difference was observed. The results showed that graphical analysis of the genotype \times trait biplot, explaining 53.43% of the total standardized data variation, could greatly facilitate the study of genetic variation and relationships between traits. The positive correlation between two important traits of total dry weight and leaf to stem ratio led to a nearly identical ranking of the populations based on these traits, which is important for simultaneous breeding of these two traits. Further, the studied populations were clustered in two main groups, each of them in two subgroups based on cluster analysis, the first subgroup containing foreign and Ghareh-Yonjeh populations, and in terms of forage yield and leaf to stem ratio The situation was favorable. Therefore, the populations in the first cluster can be used in alfalfa cultivation development programs and the future breeding program of this plant.

Key words: Genotype-by-Trait Biplot, Genetic Diversity, Forage, Classification of Alfalfa Populations.

*Corresponding author

Abdi, H., Bernousi, I., Zakeri, R., & Hatamzadeh, H. (2024). Evaluation of Phenotypic Diversity in Some Populations of Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) with Different Origins Under Urmia Climate. *Taxonomy and Biosystematics*, 16 (58), 15-32.

2322-2190 © The Author(s). Published by University of Isfahan

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>).



<http://dx.doi.org/10.22108/tbj.2024.141621.1266>

Introduction

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is known as the most valuable fodder plant in the world due to its high yield, good fodder quality, tolerance to environmental stress and positive role in soil fertility and structure (Biazzi et al., 2017). The local populations of alfalfa in Iran have higher genetic diversity and are a valuable source for alfalfa germplasm conservation and breeding programs in the future (Rameshknia et al., 2024). Knowledge of diversity is the main condition of plant breeding. So far, a wide range of researches have reported phenotypic variation among different domestic and foreign alfalfa populations (Abdollahi Mandoulakani, 2013; Hazegh Jafari et al., 2014; Benabderrahim et al., 2015; Sayed et al., 2022). The purpose of this research was to evaluate alfalfa populations with different origins in terms of phenotypic traits, compare populations in terms of important traits, and analyze the correlation between traits using the genotype \times trait (GT) and genotype group \times trait (GGT) biplots.

Materials and Methods

An experiment with 40 alfalfa populations of different origin in the form of randomized complete block design (RCBD) with three replications was conducted in a research farm of Urmia University in 2018. Each population was cultivated in a two-meter line with a distance of 20 cm between two plants. Traits including plant height, re-growth rate, No. of node, node length, No. of stem, No. of floret per racemes, racemes length, No. of pod per racemes, leaf fresh weight, leaf dry weight, stem fresh weight, stem dry weight, total fresh weight, total dry weight, leaf dry weight/stem dry weight, and total dry weight/total fresh weight were measured. Analysis of variance (ANOVA) was done in SAS 9.4 software. The cluster dendrogram was drawn by calculating Euclidean square distances and Ward's method in Minitab 18. Finally, the standardized data of two-way table of genotype \times trait and genotype group \times trait were analyzed using GT and GGT biplots in GGEbiplotsGUI R-package.

Research Findings

The results of ANOVA showed that there was a statistically significant difference between the alfalfa populations studied in terms of all the measured traits except the racemes length. This difference indicates the existence of diversity among alfalfa populations in terms of fodder yield and some morphological and physiological characteristics, the basis of which can be well deciphered with GT biplots. The results showed that graphical analysis of the genotype \times trait biplot, explaining 53.43% of the total standardized data variation, could greatly facilitate the study of genetic variation and relationships between traits. Population No. 32 had the highest amount in terms of leaf dry weight, stem dry weight, and number of nodes. Population No. 2 had the highest amount of fresh and dry weight of leaves, fresh and dry weight of stem, and total fresh and dry weight. Also, population No. 16 had the highest number of floret per racemes and the plant height. In the end, population No. 6 was suitable in terms of total dry weight/total wet weight, number of pods per racemes, racemes length, inter-node distance, number of stems, and re-growth rate. The number of nodes, leaf dry weight/stem dry weight, fresh and dry weight of leaf, fresh and dry weight of stem, and total fresh and dry weight were positively correlated with each other. One of the strongest negative correlations is the correlation between leaf dry weight/stem dry weight with the number of stems and re-growth rate. The results of the cluster analysis showed that the studied populations were divided into two main groups, each with two subgroups, based on the studied traits. The first subgroup had 9 populations, half of which were of Gareh-Yonjeh origin. The second subgroup had 8 populations, which had the highest fodder yield after the first subgroup. The third subgroup included 15 populations and in the fourth subgroup, like the other three subgroups, populations with different origins were placed in one cluster and had 8 populations.


Discussion of Results and Conclusion

According to our findings, considerable diversity in terms of phenotypic traits has been observed in different alfalfa populations (Bagavathiannan et al., 2010; Moawed, 2016; Abdollahi Mandoulakani, 2013; Khodarahmpour & Motamedi, 2016; dos Santos et al., 2020). Iran is one of the centers of origin and diversity of alfalfa. Such diversity is very important to face the increasing climatic changes that significantly affect the yield of alfalfa (Pourshirazi et al., 2022). The GT biplot technique is a suitable statistical method that can correctly show the relationship between traits (Akcira et al., 2016). Based on the results, the first component was identified as fodder production component and the second component as reproductive component. Populations with high fodder yield and leaf-to-stem ratio were related to Gareh-Yonjeh and foreign populations. While, except for one case, populations with Hamadani origin had average and low performance, and tropical populations were the most unfavorable. The positive correlation between two important traits of total dry weight and leaf to stem ratio led to a nearly identical ranking of the populations based on these traits, which is important for simultaneous breeding of these two traits. Further, the studied populations were clustered in two main groups, each of them in two subgroups based on cluster analysis. Paying attention to the higher value of the first subgroup in terms of important traits will be of particular importance in breeding programs, and if the goal is to increase yield and improve leaf-to-stem ratio, the populations in this subgroup, especially the Gareh-Yonjeh populations, are preferred over others and are suitable for the Azerbaijan region. Finally, considering the positive features of GT biplot, it is recommended to use it in the evaluation of phenotypic diversity.

بررسی تنوع فنوتیپی در برخی از جمعیت‌های یونجه (*Medicago sativa* L.) با منشأهای مختلف در شرایط آب‌وهوایی ارومیه

حسین عبدی، دانشجوی دکتری، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

ho.abdi@urmia.ac.ir

ایرج برنوسی* ، استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

i.bernosi@urmia.ac.ir

رزگار ذاکری، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

rezgarzakeri119@yahoo.com

حسین حاتم زاده، محقق، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان شمالی، سازمان

تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

h.hatamzadeh@areeo.ac.ir

چکیده

یونجه یکی از پر محصول‌ترین و مغذی‌ترین گیاهان علوفه‌ای است که در سرتاسر جهان برای علوفه، سیلو یا مرتع کشت می‌شود. به منظور بررسی تنوع فنوتیپی، آزمایشی با ۴۰ جمعیت یونجه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی سال ۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه اجرا شد. صفات مختلف شامل ارتفاع بوته، سرعت رشد مجدد، تعداد گره، فاصله میان‌گره، تعداد ساقه، تعداد گل در گل‌آذین، طول گل‌آذین، تعداد غلاف در گل‌آذین، وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ساقه، وزن تر و خشک کل، نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل و نسبت برگ به ساقه اندازه‌گیری شدند. بر طبق نتایج، بین جمعیت‌های یونجه از نظر اکثر صفات اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تجزیه گرافیکی بای‌پلات ژنوتیپ × صفت با توجه ۵۳/۴۳ در صد از کل تنوع داده‌ها تا حدود زیادی توانست مطالعه تنوع فنوتیپی و روابط میان صفات را تسهیل بخشد. همبستگی مثبت میان دو صفت مهم عملکرد علوفه خشک و نسبت برگ به ساقه منجر به رتبه‌بندی تقریباً یکسان جمعیت‌ها بر اساس این صفات شد که از نظر اصلاح همزمان این دو صفت حائز اهمیت است. همچنین جمعیت‌های مطالعه شده بر اساس تجزیه خوشه‌ای به دو گروه اصلی تقسیم شدند و هر کدام در دو زیرگروه قرار گرفتند که زیرگروه اول حاوی توده‌هایی با منشأ قره یونجه و خارجی بودند و به لحاظ عملکرد علوفه و نسبت برگ به ساقه در وضعیت مطلوبی قرار داشتند؛ بنابراین، جمعیت‌های موجود در خوشه اول می‌توانند در برنامه‌های توسعه کشت یونجه و برنامه به‌نژادی آتی این گیاه استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی: بای‌پلات ژنوتیپ × صفت، تنوع ژنتیکی، علوفه، گروه‌بندی جمعیت‌های یونجه

* مسئول مکاتبات

عبدی، حسین، برنوسی، ایرج، ذاکری، رزگار، حاتم زاده، حسین. (۱۴۰۳). بررسی تنوع فنوتیپی در برخی از جمعیت‌های یونجه (*Medicago sativa* L.) با منشأهای مختلف تحت شرایط آب و هوایی ارومیه. *تاکسونومی و بیوسستماتیک*، ۱۶ (۵۸)، ۱۵-۳۲.



مقدمه

یونجه معمولی (زراعی) (*Medicago sativa* L.) به دلیل عملکرد بالا، کیفیت علوفه مطلوب، تحمل به تنش های محیطی و نقش مثبت در باروری و ساختار خاک به عنوان ارزشمندترین گیاه علوفه ای جهان شناخته می شود (Biazzi et al., 2017). این گیاه اتوتتراپلوئید ($2n=4x=32$) برای علوفه، سیلو یا مرتع کشت می شود (Bernousi & Hasanzade, 2018)؛ البته گونه *M. sativa* یک گروه تاکسونومیکی پیچیده ای دارد که شامل زیرگونه های دیپلوئید و تتراپلوئید نیز هست (Shi et al., 2024). دو مرکز بالقوه تنوع و خواستگاه برای یونجه وجود دارد که شامل آسیای صغیر / قفقاز (شمال غربی ایران، ارتفاعات ارمنستان، گرجستان و شرق ترکیه) و آسیای مرکزی (قزاقستان، ازبکستان و ارتفاعات افغانستان) است (Wang & Şakiroğlu, 2021). جنس یونجه در طایفه Trifolieae و خانواده Fabaceae قرار دارد که ۲۲ گونه از آن در ایران شناسایی شده اند (Mehregan et al., 2003). علاوه بر یونجه زراعی، گونه های دیگری از یونجه نظیر *M. minima* (L.) Bartal و *M. rigidula* (L.) All در کشور پراکنش زیادی دارند؛ بنابراین، ایران با داشتن گونه های مختلف از یونجه در زمره کشورهای است که به عنوان خواستگاه یونجه شناخته می شود (Abbasi, 2015). انتظار می رود ارقام مختلف یونجه زراعی ایرانی از قبیل قره یونجه، همدانی، بمی و ... متمایز از انواع خارجی باشند. جمعیت های محلی یونجه در ایران دارای تنوع ژنتیکی بالاتری هستند و منبع ارزشمندی برای برنامه های حفظ و اصلاح ژرم پلاسما یونجه در آینده هستند (Rameshknia et al., 2024).

مطابق با آمارنامه کشاورزی محصولات زراعی در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۰، سطح برداشت یونجه در ایران برابر با ۴۶۸ هزار هکتار و میزان تولید آن حدود پنج میلیون تن است (Ministry of Jihad Agriculture, 2023). با وجود اهمیت اقتصادی یونجه زراعی، پیشرفت های حاصل از برنامه های اصلاحی آن به ویژه در داخل کشور به دلیل وراثت پذیری کم، اثر متقابل ژنوتیپ × محیط بالا، پس روی خویش آمیزی شدید و پیچیدگی ساختار ژنتیکی نسبت به گیاهان دیگر ناچیز بوده است. با این حال، عملکرد و کیفیت علوفه یونجه با شیبی کم و از طریق انتخاب فنوتیپی بهبود یافته است (Annicchiarico et al., 2015). بدیهی است که آگاهی از میزان تنوع، پیش شرط بهبود و اصلاح گیاهان است. بدین منظور در چندین تحقیق تنوع ژنتیکی یونجه بررسی شده است. عبدالهی مندولکانی تعداد ۱۱۰ ژنوتیپ متعلق به ۱۱ جمعیت مختلف یونجه زراعی را با استفاده از ۱۳ صفت مورفولوژی یک در دو گروه اصلی و هر کدام با دو زیرگروه قرار داد (Abdollahi, 2013). در بررسی ۱۸۱ کویتپ یونجه ایرانی مشخص شد که نقش ساقه در عملکرد یونجه مهم تر از برگ است (Rezaei et al., 2010). کاکائی و مظاهری لقب در ۳۰ جمعیت یونجه زراعی چندساله (Kakaei & Mazahery-Laghab, 2014)، حاذق جعفری و همکاران در ۴۹ ژنوتیپ یونجه (Hazegh Jafari et al., 2014) و خدارحم پور و معتمدی در ۲۱ توده یونجه (Khodarahmpour & Motamedi, 2016) وجود تنوع ژنتیکی را با استفاده از صفات زراعی و مورفولوژیکی گزارش کردند. بنابراهیم و همکاران ۲۰ کویتپ محلی را با ۱۶ رقم اگزوتیک یونجه در شرایط کشور تونس مقایسه کردند (Benabderrahim et al., 2015). آنیکچاریکو توارث پذیری خصوصی، همبستگی ژنتیکی و روش های انتخاب والد را برای دو صفت مهم یونجه یعنی عملکرد و نسبت برگ به ساقه بررسی و گزارش کرد که عملکرد علوفه از طریق انتخاب ژنوتیپی و نسبت برگ به ساقه از طریق انتخاب فنوتیپی در مجموعه بزرگی

از افراد قابل بهبود هستند (Annicchiarico, 2015). در پژوهشی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های یونجه با استفاده از صفات مورفولوژیک، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر و نشانگرهای مولکولی ارزیابی شد. نتایج نشان دادند قرابت ضعیفی بین فاصله ژنتیکی براساس مارکرهای مولکولی و فاصله ژنتیکی براساس تجزیه موفولوژیک وجود دارد (Zivkovic et al., 2012). ماثود از صفات ریخت‌شناختی در کنار ویژگی‌های تشریحی برای تشخیص و تأیید ارقام یونجه (Moawed, 2016) و باگواتیانان و همکاران از صفات فنوتیپی در کنار نشانگرهای مولکولی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی یونجه استفاده کردند (Bagavathiannan et al., 2010). در مطالعه‌ای دیگر، اختلاف آماری معنی‌داری بین جمعیت‌های یونجه به لحاظ عملکرد علوفه تر و خشک و نسبت برگ به ساقه مشاهده شد (Sayed et al., 2022).

تنوری استفاده از بای‌پلات ژنوتیپ × صفت (GT Biplot) طی سالیان اخیر توسعه داده شد (Yan & Kang, 2002) و توسط سایر محققان بر سودمندی آن تأکید شد (Yan & Frégeau-Reid, 2008; Yan & Frégeau-Reid, 2018). رویکرد مذکور به صورت گرافیکی و ساده اطلاعاتی راجع به همبستگی بین صفات و وضعیت ژنوتیپ‌ها براساس یک یا چند صفت فراهم می‌آورد. این روش در بررسی ارتباط عملکرد با صفات ریشه (Hoyos-Villegas et al., 2016)، ارتباط عملکرد با اجزای عملکرد (Akcura et al., 2018) و ارتباط عملکرد با صفات کیفی (Kiliç et al., 2018) استفاده شده است. همچنین محمدی و همکاران در توده‌های طالبی (Mohammadi et al., 2014)، محدثی و همکاران در ژنوتیپ‌های برنج (Mohaddesi et al., 2017)، قلی‌زاده و همکاران در نژادگان‌های گندم (Gholizadeh et al., 2018) و صباغ‌نیا و همکاران در ژنوتیپ‌های شاهی (Sabaghnia et al., 2024) روابط متقابل میان صفات را با روش بای‌پلات GT بررسی کردند. نواحی شمال غرب ایران یکی از بخش‌های مهم تولید یونجه در کشور هستند و لازم است در شرایط آب‌وهوایی این مناطق مطالعات بیشتری در رابطه با تنوع فنوتیپی یونجه‌های داخلی و مقایسه آنها با نمونه‌های خارجی صورت گیرد. هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی تنوع فنوتیپی جمعیت‌های مختلف یونجه داخلی و خارجی به لحاظ صفات فنوتیپی و مقایسه جمعیت‌های مذکور از نظر صفات مهم در شرایط اقلیمی استان آذربایجان غربی (ارومیه) بود. همچنین، تحلیل روابط بین صفات مختلف با استفاده از روش بای‌پلات ژنوتیپ × صفت و گروه‌بندی جمعیت‌های مطالعه‌شده با استفاده از تجزیه خوشه‌ای از دیگر اهداف بود.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی تنوع فنوتیپی جمعیت‌های یونجه زراعی (*Medicago sativa* L.)، آزمایشی با ۴۰ جمعیت (جدول ۱) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی فصول بهار و تابستان سال ۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، واقع در منطقه نازلو با عرض جغرافیایی $37^{\circ} 32''$ و طول جغرافیایی $50^{\circ} 45'$ و ۱۳۱۳ متر ارتفاع از سطح دریایی آزاد اجرا شد. شماره هر بار یوم نمونه‌ها در جدول ۱ ارائه شده است و در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی نگهداری می‌شوند. هر جمعیت در یک خط دو متری با فاصله ۲۰ سانتی‌متر بین دو بوته کشت شدند. فاصله خطوط از یکدیگر ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بلوک‌ها ۱ متر بود. همچنین آبیاری براساس نیاز گیاه انجام گرفته است و طی مرحله داشت از کود شیمیایی ۲۰-۲۰-۲۰ (NPK) استفاده شد.

جدول ۱- مشخصات جمعیت‌های یونجه مطالعه شده

Table 1- Characteristics of studied alfalfa populations

کد Code	شماره هرباریوم Herbarium No.	جمعیت Population	منشأ Origin	کد Code	شماره هرباریوم Herbarium No.	جمعیت Population	منشأ Origin
1	11011	جلفا Jolfa	قره یونجه Gareh- Yonjeh	21	11031	ماکسیما Maxima	خارجی Foreign
2	11012	اردوباد Ordobad	خارجی Foreign	22	11032	الچی Elchi	خارجی Foreign
3	11013	ارومیه ۱ Urmia 1	قره یونجه Gareh- Yonjeh	23	11033	کایساری Kerrisary	خارجی Foreign
4	11014	اشنویه Oshnavieh	قره یونجه Gareh- Yonjeh	24	11034	سیمرچنسکایا Simerchenskaya	خارجی Foreign
5	11015	ارومیه ۲ Urmia 2	قره یونجه Gareh- Yonjeh	25	11035	رنجر Ranger	خارجی Foreign
6	11016	سیلوانا Silvana	قره یونجه Gareh- Yonjeh	26	11036	سکویل Sequel	خارجی Foreign
7	11017	قارقالوق Qarqaluq	قره یونجه Gareh- Yonjeh	27	11037	سی‌ریور Siriver	خارجی Foreign
8	11018	سنتتیک ۱ Synthetic 1	قره یونجه Gareh- Yonjeh	28	11038	دفی Defi	خارجی Foreign
9	11019	ارومیه ۳ Urmia 3	قره یونجه Gareh- Yonjeh	29	11039	یوگسلاوی ۱ Yugoslav 1	خارجی Foreign
10	11020	همدان Hamadan	همدانی Hamadani	30	11040	یوگسلاوی ۲ Yugoslav 2	خارجی Foreign
11	11021	مهاجران Mohajeran	همدانی Hamadani	31	11041	دیانه Diane	خارجی Foreign
12	11022	قهاوند Ghahavand	همدانی Hamadani	32	11042	دیابلو-ورده Diablo-verde	خارجی Foreign
13	11023	کوزره Kozare	همدانی Hamadani	33	11043	کدی Cody	خارجی Foreign
14	11024	رامندی Ramandi	همدانی Hamadani	34	11044	محلی اصفهان Mahali Esfahan	اصفهان Isfahan
15	11025	کا-اف-ای ۵ KFA5	همدانی Hamadani	35	11045	سنتتیک ۲ Synthetic 2	خرم‌شهر Khorramshahr
16	11026	کا-اف-ای ۶ KFA6	همدانی Hamadani	36	11046	سنتتیک ۳ Synthetic 3	تیکمه‌داش Tekmeh Dash
17	11027	کا-اف-ای ۱۶ KFA16	همدانی Hamadani	37	11047	گرم‌سیری ۱ Tropical 1	بمی Bami
18	11028	کا-اف-ای ۱۷ KFA17	همدانی Hamadani	38	11048	گرم‌سیری ۲ Tropical 2	بمی Bami
19	11029	کا-اف-ای ۹ KFA9	شهرکرد Shahrekord	39	11049	گرم‌سیری ۳ Tropical 3	بمی Bami
20	11030	اولتیم Ultima	خارجی Foreign	40	11050	مخلوط Mixed	ناشناخته Unknown

اندازه‌گیری صفات در مرحله ۱۰ درصد گل‌دهی صورت گرفت. قبل از انجام عملیات برداشت علوفه، با انتخاب پنج بوته به‌طور تصادفی ارتفاع بوته ثبت شد. بعد از برداشت و آبیاری مزرعه و پس از گذشت زمان مناسب، میانگین ارتفاع به‌ازای هر ۵ سانتی‌متر یک امتیاز محسوب شده است و سرعت رشد مجدد محاسبه شد. پس از عملیات برداشت علوفه، تعداد گره، شمارش و فاصله بین میان‌گره سوم تا چهارم اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد ساقه‌های بزرگ‌تر از ۲۰ سانتی‌متر، متوسط تعداد گل در گل‌آذین، طول گل‌آذین و تعداد غلاف در گل‌آذین نیز اندازه‌گیری شدند. پس از جداکردن برگ‌ها و ساقه‌ها از هم، وزن تر برگ و وزن تر ساقه توزین شدند و مجموع آنها به‌عنوان عملکرد علوفه تر در نظر گرفته شد. سپس برگ‌ها و ساقه‌ها برای مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک برگ و ساقه توزین شد و از مجموع آنها عملکرد علوفه خشک به دست آمد؛ درنهایت، نسبت برگ خشک به ساقه خشک و نسبت عملکرد علوفه تر به علوفه خشک محاسبه شدند. این صفات براساس دستورالعمل یادداشت‌برداری صفات در آزمایشات یونجه (Abbasi & Moghaddam, 2002) اندازه‌گیری شدند.

بررسی نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی و تجزیه واریانس داده‌ها در نرم‌افزار آماری SAS 9.4 انجام شد. تجزیه خوشه‌ای با داده‌های استاندارد شده و با محاسبه فواصل مربع اقلیدسی و روش Ward در نرم‌افزار Minitab 18 صورت گرفت. در انتها، داده‌های استاندارد شده جدول دوطرفه ژنوتیپ × صفت و گروه ژنوتیپی × صفت با استفاده از روش‌های بای‌پلات GT و GGT و با استفاده از نرم‌افزار R 3.5.2 و بسته GGEBiplotsGUI تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی، تجزیه واریانس دوطرفه داده‌ها انجام شد و نتایج حاصل از آن نشان دادند بین جمعیت‌های یونجه مطالعه شده، از نظر تمامی صفات اندازه‌گیری شده، به‌جز طول گل‌آذین، اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). این اختلاف بیان‌کننده وجود تنوع در میان جمعیت‌های یونجه به لحاظ عملکرد علوفه (وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ساقه و وزن تر و خشک کل)، صفات کیفی (نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل) و برخی از ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر سرعت رشد مجدد، تعداد ساقه، ارتفاع بوته، تعداد گره، فاصله میان‌گره، تعداد گل در گل‌آذین و تعداد غلاف در گل‌آذین است. اساس این تنوع می‌تواند به‌خوبی با نمودارهای ژنوتیپ × صفت رمزگشایی شود.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مختلف در ۴۰ جمعیت یونجه

Table 2- Analysis of variance of different traits in 40 alfalfa populations

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares							
		PH	RGR	NN	NL	NS	NFPR	RL	NPPR
Block بلوک	2	67.2 ^{ns}	0.71 ^{ns}	9.87*	2.76 ^{ns}	155**	26.4*	0.04 ^{ns}	81.2**
Populations جمعیت	39	116.6**	6.67**	6.99**	2.32**	16.1**	14.11*	0.07 ^{ns}	11.7**
Error خطا	78	56.1	1.69	3.15	1.11	1.67	8.15	0.69	6.01
Coefficient of variation ضریب تغییرات (%)		10.71	18.10	11.25	20.91	19.69	18.85	18.42	18.10
آزمون نرمال بودن کولموگروف - اسمیرنوف		0.090 ^{ns}	0.135 ^{ns}	0.108 ^{ns}	0.058 ^{ns}	0.112 ^{ns}	0.100 ^{ns}	0.117 ^{ns}	0.089 ^{ns}

ns, * and **: non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively. PH: plant height, RGR: regrowth rate, NN: number of nodes, NL: node length, NS: number of stems, NFPR: number of floret per racemes, RL: racemes length, NPPR: number of pods per racemes

ns, * and **: به ترتیب غیرمعنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است. PH: ارتفاع بوته، RGR: سرعت رشد مجدد، NN: تعداد گره، NL: فاصله میان گره، NS: تعداد ساقه، NFPR: تعداد گل در گل آذین، RL: طول گل آذین، NPPR: تعداد غلاف در گل آذین

ns, * and **: non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively. PH: plant height, RGR: regrowth rate, NN: number of nodes, NL: node length, NS: number of stems, NFPR: number of floret per racemes, RL: racemes length, NPPR: number of pods per racemes

ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مختلف در ۴۰ جمعیت یونجه

Continuation of Table 2- Analysis of variance of different traits in 40 alfalfa stands

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares							
		LF	LD	SF	SD	TF	TD	LD/SD	TD/TF
Block بلوک	2	140.1*	3.37 ^{ns}	102.1 ^{ns}	6.34 ^{ns}	2414**	147.8**	0.44**	0.002 ^{ns}
Populations جمعیت	39	199.3**	20.4**	238.6**	16.5**	982.2**	75.2**	0.15**	0.005**
Error خطا	78	37.1	1.76	48.6	3.45	82.9	8.22	0.05	0.001
Coefficient of variation ضریب تغییرات (%)		32.7	24.40	30.55	31.54	21.52	24.80	23.77	13.64
آزمون نرمال بودن کولموگروف - اسمیرنوف		0.136 ^{ns}	0.120 ^{ns}	0.105 ^{ns}	0.107 ^{ns}	0.118 ^{ns}	0.135 ^{ns}	0.120 ^{ns}	0.116 ^{ns}

ns, * and **: به ترتیب غیرمعنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است. LF: وزن تر برگ، LD: وزن خشک برگ، SF: وزن تر ساقه، SD: وزن خشک ساقه، TF: وزن تر کل، TD: وزن خشک کل، LD/SD: وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و TD/TF: وزن خشک کل به وزن تر کل

ns, * and **: non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively. LF: leaf fresh weight, LD: leaf dry weight, SF: stem fresh weight, SD: stem dry weight, TF: total fresh weight, TD: total dry weight, LD/SD: leaf dry weight/stem dry weight, and TD/TF: total dry weight/total fresh weight

ns, * and **: non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively. LF: leaf fresh weight, LD: leaf dry weight, SF: stem fresh weight, SD: stem dry weight, TF: total fresh weight, TD: total dry weight, LD/SD: leaf dry weight/stem dry weight, and TD/TF: total dry weight/total fresh weight

ترسیم بای پلات GT برای داده‌های استاندارد شده، ۵۳/۴۳ درصد از تغییرات موجود در جدول دوطرفه ژنوتیپ × صفت را توجیه کرد (شکل ۱). از این مقدار سهم مؤلفه نخست ۴۰/۷۹ درصد و سهم مؤلفه دوم ۱۲/۶۴ درصد بود. شکل ۱ (A)، نمای چند ضلعی بای پلات را نشان می‌دهد که الگویی مناسب برای شناسایی برترین جمعیت‌های یونجه بر اساس صفات اندازه گیری شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، جمعیت‌های شماره ۲، ۶، ۱۰، ۲۰، ۳۲ و ۳۹ که در دورترین فاصله از مبدأ بای پلات قرار گرفته‌اند، از طریق خطوط سیاه رنگی به یکدیگر پیوسته و چندضلعی را تشکیل داده‌اند؛ به طوری که ۳۴ جمعیت باقی مانده درون این چندضلعی محصور ماندند. خطوط قرمز رنگی که از مبدأ بای پلات منشأ گرفته‌اند و عمود بر هر کدام از اضلاع چند ضلعی هستند، بای پلات را به شش بخش نامساوی تقسیم کرده‌اند. هر بخش دارای یک جمعیت رأسی است و از نظر صفات موجود در آن بخش، دارای بیشترین عملکرد خواهد بود. بر این اساس، جمعیت شماره ۳۲ از لحاظ صفات وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و تعداد گره بیشترین مقدار را داشت. جمعیت ۲ در بخش یکسانی با صفات وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ساقه و وزن تر و خشک کل قرار داشت؛ بنابراین، از نظر این صفات وضعیت برتری را نشان داد. به همین ترتیب، جمعیت شماره ۱۶ از نظر تعداد گل در گل آذین و ارتفاع بوته و جمعیت ۶ از نظر وزن خشک کل به وزن تر کل، تعداد غلاف در گل آذین، طول گل آذین، فاصله میان گره، تعداد ساقه و سرعت رشد مجدد بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. جمعیت‌های ۲۰ و ۳۹ جزء توده‌های رأسی بودند که هیچ صفتی

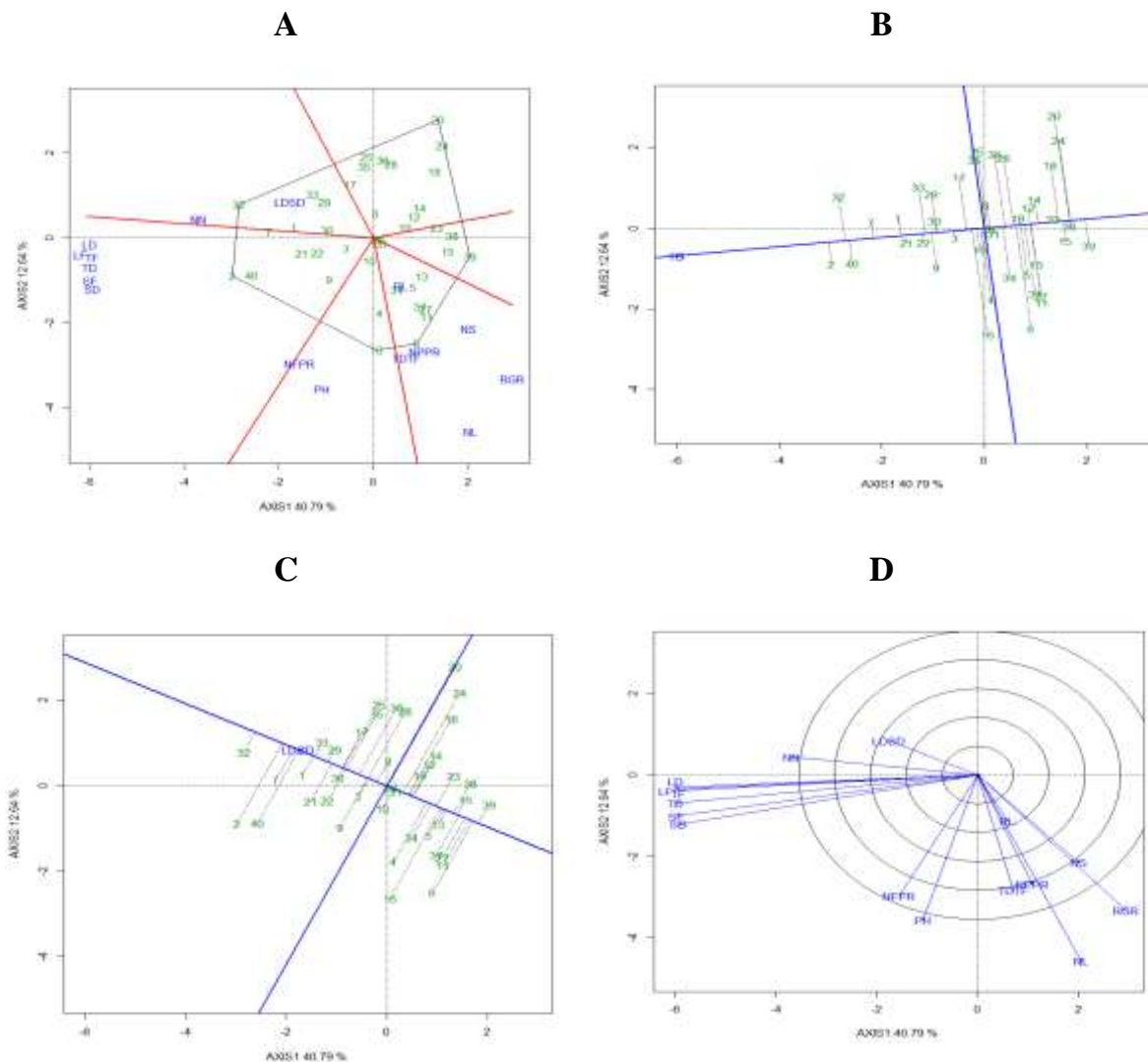
در بخش مربوط به آنها واقع نشد که نشان می‌دهد این جمعیت‌ها از نظر هیچ کدام از صفات مطالعه شده در وضعیت مناسبی قرار نداشتند. همان‌طور که جمعیت‌های رأسی با طولانی‌ترین فاصله از مبدأ بای پلات جزء واکنش پذیرترین جمعیت‌ها بودند، جمعیت‌های ۲۶ و ۳۱ با نزدیکی به مبدأ بای پلات دارای سطح متوسطی برای صفات بودند.

شکل ۱ (B)، رتبه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس مهم‌ترین صفت یونجه یعنی عملکرد علوفه خشک را نشان می‌دهد. در این تصویر خطی موسوم به محور صفت از مبدأ بای پلات به موقعیت عملکرد علوفه خشک رسم شده و از موقعیت هر جمعیت خط نقطه‌چینی بر محور صفت، عمود شده است. محور صفت دارای یک پیکان است که جهت افزایش را نشان می‌دهد؛ بنابراین، حرکت در عکس این پیکان می‌تواند توده‌ها را از عملکرد بیشتر به عملکرد کمتر رتبه‌بندی کند. براساس این، جمعیت‌های شماره ۲، ۳۲، ۴۰، ۷ و ۱ به ترتیب بیشترین عملکرد علوفه خشک را داشتند؛ در حالی که جمعیت‌های شماره ۱۵، ۱۸، ۲۰، ۲۳، ۲۴، ۳۸ و ۳۹ در بدترین وضعیت قرار داشتند. لازم به توضیح است که خط عمود بر محور صفت که از مبدأ بای پلات نیز می‌گذرد، توده‌ها را از نظر عملکرد علوفه به دو قسمت پایین‌تر از متوسط (جمعیت‌های سمت راست) و بالاتر از متوسط (جمعیت‌های سمت چپ) تقسیم می‌کند و همان‌طور که ملاحظه می‌شود بیشتر جمعیت‌ها عملکردی پایین‌تر از متوسط را داشتند. **شکل ۱ (C)** نیز وضعیت جمعیت‌های مطالعه شده به لحاظ نسبت برگ به ساقه را نشان می‌دهد که تفسیر آن مشابه با مورد پیشین است. جمعیت‌های شماره ۲، ۷، ۴۰، ۱ و ۳۳ دارای بیشترین و جمعیت‌های شماره ۶، ۱۱، ۲۷، ۳۷ و ۳۹ دارای کمترین نسبت برگ به ساقه بودند.

در نهایت، **شکل ۱ (D)** نمایش برداری صفات است که می‌تواند از نوع روابط میان صفات مختلف یونجه اطلاعاتی فراهم کند. در این تصویر از مبدأ بای پلات به مکان هر صفت، خطی موسوم به بردار صفات رسم می‌شود. کوسینوس زاویه بین این بردارها تقریبی از میزان همبستگی پیرسون بین صفات است. زاویه کوچک‌تر از ۹۰ درجه نشان‌دهنده همبستگی مثبت، زاویه بزرگ‌تر از ۹۰ درجه نشان‌دهنده همبستگی منفی و زاویه ۹۰ درجه نشان‌دهنده مستقل بودن صفات از یکدیگر خواهد بود. براساس توضیحات فوق، صفات تعداد گره، نسبت برگ به ساقه، وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ساقه و وزن تر و خشک کل با یکدیگر همبستگی مثبتی داشتند. همچنین این همبستگی میان صفات تعداد گل در گل آذین با ارتفاع بوته و تعداد ساقه با سرعت رشد مجدد مشاهده شد. صفاتی نظیر طول گل آذین، فاصله میان گره، تعداد غلاف در گل آذین و نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل با یکدیگر همبستگی مثبتی داشتند. از شدیدترین همبستگی‌های منفی نیز می‌توان به همبستگی میان نسبت برگ به ساقه و تعداد گره با تعداد ساقه و سرعت رشد مجدد اشاره کرد. نمایش برداری صفات در بای پلات GT علاوه بر همبستگی می‌تواند میزان تنوع توده‌ها از لحاظ صفات مختلف را نشان دهد و همان‌گونه که ملاحظه می‌شود طول گل آذین با کوچک‌ترین بردار، کمترین تنوع را داشت.

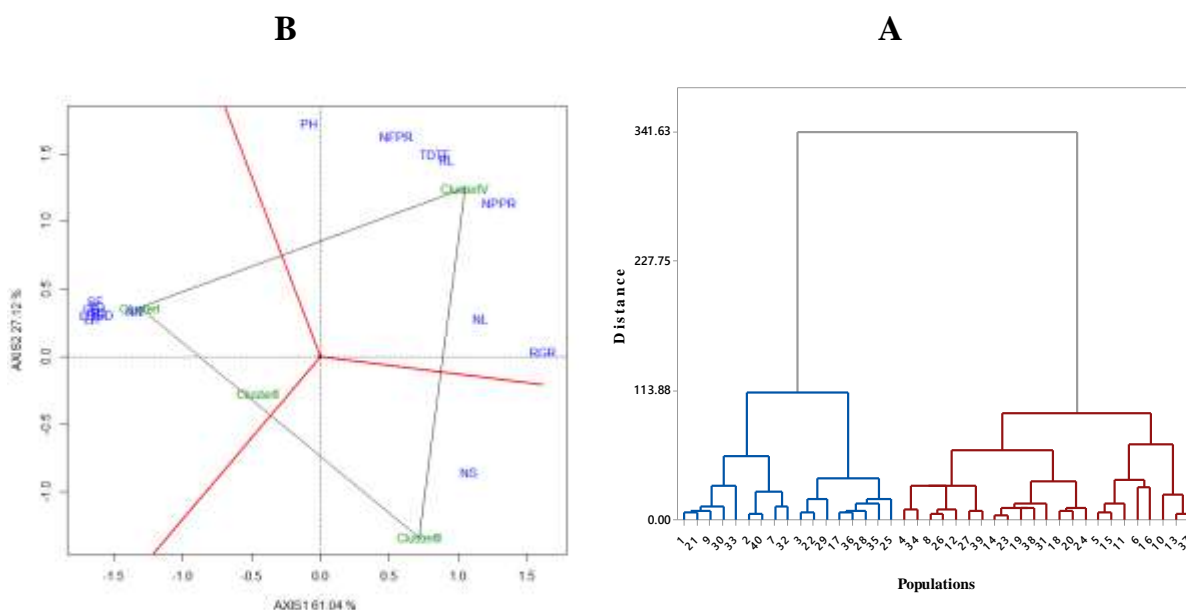
نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان دادند جمعیت‌های یونجه مطالعه شده در پژوهش حاضر، براساس صفات اندازه‌گیری شده، به دو گروه اصلی و هر کدام با دو زیرگروه تقسیم شدند (**شکل ۲A**). زیرگروه اول دارای ۹ جمعیت بود که حدود نیمی از آنها دارای منشأ قره یونجه بودند و براساس بای پلات گروه ژنوتیپ \times صفت (GGT) از نظر عملکرد علوفه، نسبت برگ به ساقه و تعداد گره در وضعیت مناسبی قرار داشتند (**شکل ۲B**). زیرگروه دوم ۸ جمعیت داشت که بعد از زیرگروه اول دارای بیشترین عملکرد علوفه بود. زیرگروه سوم ۱۵ جمعیت را شامل شد و به لحاظ تعداد ساقه برتر بود. در نهایت، در زیرگروه چهارم نیز همانند سه زیرگروه دیگر جمعیت‌هایی با منشأ متفاوت در یک خوشه قرار گرفتند و دارای ۸ جمعیت بود که از نظر ارتفاع بوته، طول گل آذین، تعداد گل و غلاف در گل آذین، سرعت رشد مجدد، نسبت وزن خشک کل به

وزن تر کل و فاصله میان‌گره دارای بیشترین مقادیر بودند.



شکل ۱- نتایج حاصل از تجزیه بای‌پلات ژنوتیپ × صفت. نمایش چند ضلعی (A)، رتبه‌بندی جمعیت‌های یونجه بر اساس وزن خشک کل (B)، رتبه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس نسبت وزن خشک برگ به ساقه (C) و نمایش برداری روابط صفات (D). PH: ارتفاع بوته، RGR: سرعت رشد مجدد، NN: تعداد گره، NL: فاصله میان‌گره، NS: تعداد ساقه، NFPR: تعداد گل در گل‌آذین، RL: طول گل‌آذین، NPPR: تعداد غلاف در گل‌آذین، LF: وزن تر برگ، LD: وزن خشک برگ، SF: وزن تر ساقه، SD: وزن خشک ساقه، TF: وزن تر کل، TD: وزن خشک کل، LD/SD: وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و TD/TF: وزن خشک کل به وزن تر کل.

Figure 1- The results of GT biplot analysis. Polygon display (A), Ranking of populations based on total dry weight (B), Ranking of genotypes based on leaf dry weight/stem dry weight (C), and vector representation of trait relationships (D). PH: plant height, RGR: regrowth rate, NN: number of nodes, NL: node length, NS: number of stems, NFPR: number of floret per racemes, RL: racemes length, NPPR: number of pods per racemes, LF: leaf fresh weight, LD: leaf dry weight, SD: stem dry weight, TF: total fresh weight, TD: total dry weight, LD/SD: leaf dry weight/stem dry weight, and TD/TF: total dry weight/total fresh weight



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای (A) و نمایش چند ضلعی بای پلات GGT جمعیت یونجه بر اساس صفات مختلف (B). PH: ارتفاع بوته، RGR: سرعت رشد مجدد، NN: تعداد گره، NL: فاصله میان گره، NS: تعداد ساقه، NFPR: تعداد گل در گل آذین، RL: طول گل آذین، NPPR: تعداد غلاف در گل آذین، LF: وزن تر برگ، LD: وزن خشک برگ، SF: وزن تر ساقه، SD: وزن خشک ساقه، TF: وزن تر کل، TD: وزن خشک کل، LD/SD: وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و TD/TF: وزن خشک کل به وزن تر کل (برای شماره و منشأ ژنوتیپ‌ها به جدول ۱ مراجعه شود).

Figure 2- Dendrogram obtained from cluster analysis (A) and polygon representation of GGT biplot of different alfalfa populations based on different traits (B). PH: plant height, RGR: regrowth rate, NN: number of nodes, NL: node length, NS: number of stems, NFPR: number of floret per racemes, RL: racemes length, NPPR: number of pods per racemes, LF: leaf fresh weight, LD: leaf dry weight, SF: stem fresh weight, SD: stem dry weight, TF: total fresh weight, TD: total dry weight, LD/SD: leaf dry weight/stem dry weight, and TD/TF: total dry weight/total fresh weight (refer to Table 1 for the number and origin of genotypes).

بحث

یونجه یکی از اولین محصولات علوفه‌ای اهلی شده که نقش اقتصادی و فرهنگی مهمی در تاریخ داشته است (Wang & Şakiroğlu, 2021). همان‌طور که ملاحظه شد، بین جمعیت‌های یونجه مطالعه‌شده، تنوع چشمگیری از نظر صفات فنوتیپی وجود داشت که مشابه آن در چندین تحقیق گزارش شده است (Bagavathiannan et al., 2010; Moawed, 2016; Abdollahi Mandoulakani, 2013; Khodarahmpour & Motamedi, 2016; dos Santos et al., 2020; Escobar-Gutiérrez & Ahmed, 2023). بهبود محصولات علوفه‌ای تا حد زیادی به در دسترس بودن ژرم پلاسما‌های متنوع و استفاده کارآمد از آنها بستگی دارد (Sayed et al., 2022). ایران و به‌ویژه شمال غرب آن یکی از مراکز پیدایش و تنوع یونجه است. چنین تنوعی برای مواجهه با تغییرات اقلیمی روزافزون که بر عملکرد یونجه تأثیر چشمگیری می‌گذارند، اهمیت به‌سزایی دارد (Pourshirazi et al., 2022).

تنوع فنوتیپی بین جمعیت‌های یونجه به شکل ساده‌تر می‌تواند در بای پلات‌های GT مشاهده و ارزیابی شود. تکنیک بای پلات روش آماری مناسبی برای نمایش داده‌های ژنوتیپ در صفت است و به شکل صحیحی می‌تواند ارتباط بین صفات را نشان دهد (Akcura et al., 2016; Sabaghnia et al., 2024). بر اساس نتایج، مؤلفه اول به‌عنوان مؤلفه تولید علوفه و مؤلفه دوم به‌عنوان مؤلفه زایشی شناخته شدند. در صد توجیه تغییرات کل توسط بای پلات زیاد نیست؛ اما همین

مقدار نیز می‌تواند ساختار موجود در داده‌ها را نشان دهد. Rajcan و Yan این نتیجه را نشان‌دهنده روابط پیچیده میان صفات اندازه‌گیری شده دانسته‌اند (Yan & Rajcan, 2002). Kroonenberg ثابت کرد سهم کم یا متوسط تنوع توجیه شده توسط بای‌پلات می‌تواند نشان دهد که ساختار اصلی جدول دوطرفه در بای‌پلات حفظ و نمایندگی می‌شود؛ اما ساختار اضافی در ابعاد بالاتر ممکن است کاذب باشد (Kroonenberg, 1997). در هر حال، بای‌پلات‌هایی که تنوع کمتری را توجیه می‌کنند، هنوز می‌توانند اطلاعات مفیدی را ارائه دهند (Laffont et al., 2007). بر همین اساس، قلی‌زاده و همکاران روابط متقابل میان صفات در نژادگان‌های گندم را با استفاده از بای‌پلات‌هایی بررسی کردند که در محیط نرمال ۵۳/۳ درصد و در محیط تنش شوری ۵۴/۲ درصد از تغییرات را توجیه می‌کردند (Gholizadeh et al., 2018). نمایش چند ضلعی کمک می‌کند توده‌هایی تشخیص داده شوند که بالاترین مقدار برای یک صفت یا بیشتر صفات را دارند؛ اما باید توجه داشت که تمام صفات از اهمیت یکسانی برخوردار نیستند و پژوهشگر مایل است وضعیت همه توده‌ها را براساس صفات مهم ارزیابی کند. با وجود اینکه صفات مرتبط با گل و گل‌آذین در مطالعات تکاملی و تاکسونومیکی حائز اهمیت هستند، بدیهی است که عملکرد علوفه خشک مهم‌ترین صفت کمی و نسبت برگ به ساقه مهم‌ترین صفت کیفی علوفه یونجه به شمار می‌رود. کیفیت علوفه به‌طور مؤثری از نسبت برگ به ساقه تأثیر می‌پذیرد و میزان آنها در جمعیت‌هایی بیشتر است که این نسبت بالا است (Annicchiarico, 2015 Sayed et al., 2022). در این مطالعه، همبستگی مثبت بین دو صفت منجر شد تا رتبه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس آنها تقریباً مشابه باشد. جمعیت‌ها با عملکرد علوفه بالا و نسبت برگ به ساقه بیشتر مربوط به جمعیت‌هایی با منشأ قره یونجه و خارجی بودند؛ در حالی که جمعیت‌هایی با منشأ همدانی به جز یک مورد دارای عملکرد متوسط و پایینی بودند و جمعیت‌های گرم‌سیری در بدترین وضعیت قرار داشتند. همبستگی مثبت میان عملکرد علوفه و نسبت برگ به ساقه امکان اصلاح همزمان این صفات را فراهم می‌آورد. تاکنون اطلاعات محدود و تاحدودی متناقض در این باره منتشر شده است؛ به‌طوری که Julier و همکاران همبستگی ژنتیکی منفی میان این دو صفت گزارش کردند (Julier et al., 2000). وجود همبستگی‌های نامطلوب میان صفات مهم، یکی از چالش‌های ارزیابی ژنوتیپ‌ها به شمار می‌آید (Yan & Frégeau-Reid., 2018). همبستگی شدید و مثبتی میان وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ساقه و وزن تر و خشک کل امری بدیهی است (Rezaei et al., 2016 Khodarahmpour & Motamedi, 2010). بنابراین، این صفات را می‌توان به‌عنوان یک صفت کلان در نظر گرفت (Kiliç et al., 2018). همچنین بر طبق نتایج با افزایش تعداد گره از فاصله بین میان‌گره سوم تا چهارم کاسته شده و بر نسبت برگ به ساقه افزوده شده است. طول میان‌گره صفت اصلی تعیین‌کننده تفاوت در ارتفاع بوته یونجه است و بین ارتفاع بوته و وزن خشک برگ در هر بوته در مراحل مختلف رشد همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شده است (Jing et al., 2024). کوتاه‌بودن بردار صفت برای طول گل‌آذین نشان می‌دهد که تنوع صفت در میان توده‌ها کم بوده است یا به‌خوبی در بای‌پلات نشان داده نمی‌شود (Yan & Frégeau-Reid., 2018). با توجه به عدم معنی‌داری F جدول برای این صفت می‌توان طول بردار کوتاه را ناشی از تنوع پایین دانست. در توافق با نتایج پژوهش حاضر گزارش شده است که الگوی خوشه‌بندی با تنوع جغرافیایی توده‌های یونجه هم‌خوانی ندارد (Abdollahi Mandoulakani et al., 2012 Hazegh Jafari et al., 2014). به نظر می‌رسد کاشت

طولانی مدت ارقام یونجه با منشأ مختلف در یک محیط منجر شده است تا آنها در یک گروه قرار بگیرند و خوشه‌بندی این ارقام را شاید بتوان با اجداد مشترک توضیح داد (Touil et al., 2008). برخلاف این گزاره، مطابقت تنوع جغرافیایی با تنوع فنوتیپی در گروه‌بندی یونجه‌هایی از نواحی مختلف ایران نیز مشاهده شده است (Rezaei et al., 2010). احتمالاً استفاده از اطلاعات نشانگرهای مولکولی در مطالعات آتی می‌تواند نتایج دقیق‌تری ارائه دهد؛ چنانچه گزارش شده است که گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر پایه نشانگرهای مولکولی با منشأ جغرافیایی جمعیت‌های یونجه در ارتباط هستند و جمعیت‌های اروپایی و آمریکایی از نظر ژنتیکی متمایز از جمعیت‌های چینی بودند (Pégard et al., 2023). به جز زیرگروه دوم، سایر زیرگروه‌های تعیین شده توسط تجزیه خوشه‌ای در بای‌پلات GGT کاملاً از یکدیگر تفکیک شدند که این موضوع می‌تواند دلیلی بر صحت گروه‌بندی باشد. Akcura و همکاران در کنار بای‌پلات GT با توجه ۶۷ درصد از تغییرات، از بای‌پلات GGT با توجه ۹۲ درصد از تغییرات نیز استفاده کردند و آن را در بررسی ۲۲۵ ژنوتیپ گندم نان سودمند یافتند (Akcura et al., 2016). توجه به ارزش بیشتر زیرگروه اول از نظر صفات مهم، در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار خواهد بود و اگر هدف افزایش عملکرد و بهبود نسبت برگ به ساقه باشد، جمعیت‌های موجود در این زیرگروه به‌ویژه جمعیت‌های قره یونجه نسبت به سایرین در اولویت قرار دارند و مناسب منطقه آذربایجان هستند. درنهایت، با توجه به ویژگی‌های مثبت بای‌پلات، استفاده از آن در ارزیابی تنوع فنوتیپی توصیه می‌شود.

References

- Abbasi, M. R. (2015). Iranian *medicago* genetic resources: exploration, collection, conservation and centers of diversity. *Applied Field Crops Research*, 28(106), 55-63. <https://doi.org/10.22092/AJ.2015.105676> [In Persian].
- Abbasi, M. R., & Moghaddam, A. (2002). *Guidelines for measuring traits in alfalfa trials*. Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), R-1074165. [In Persian].
- Abdollahi Mandoulakani, B. (2013). Study of genetic diversity in some populations of cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) using morphological traits. *Modern Genetics Journal*, 7(4), 381-388. <https://www.sid.ir/paper/116586/en> [In Persian].
- Abdollahi Mandoulakani, B., Piri, Y., Darvishzadeh, R., Bernoosi, I., & Jafari, M. (2012). Retroelement insertional polymorphism and genetic diversity in *Medicago sativa* populations revealed by IRAP and REMAP markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 30, 286-296. <https://doi.org/10.1007/s11105-011-0338-x>
- Akcura, M., Kokten, K., Akcacik, A.G., & Aydogan, S. (2016). Pattern analysis of Turkish bread wheat landraces and cultivars for grain and flour quality. *Turkish Journal of Field Crops*, 21(1), 120-130. <https://doi.org/10.17557/tjfc.72407>
- Akcura, M., Sabanduzen, B., & Hocaoglu, O. (2018). Using GGE biplot analysis to evaluate interrelationships between yield and yield components of oat genotypes in different growing seasons. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 21, 483-490. <https://doi.org/10.1007/s12892-018-0194-0>
- Annicchiarico, P. (2015). Alfalfa forage yield and leaf/stem ratio: narrow-sense heritability, genetic correlation, and parent selection procedures. *Euphytica*, 205, 409-420. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1399-y>
- Annicchiarico, P., Barrett, B., Brummer, E. C., Julier, B., & Marshall, A.H. (2015). Achievements and challenges in improving temperate perennial forage legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1-3), 327-380. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.898462>

- Bagavathiannan, M. V., Julier, B., Barre, P., Gulden, R. H., & Van Acker, R. C. (2010). Genetic diversity of feral alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations occurring in Manitoba, Canada and comparison with alfalfa cultivars: an analysis using SSR markers and phenotypic traits. *Euphytica*, 173, 419-432. <https://doi.org/10.1007/s10681-0100156-5>
- Benabderrahim, M. A., Hamza, H., Mansour, H., & Ferchichi, A. (2015). A comparison of performance among exotic and local alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes under Tunisian conditions. *Romanian Agricultural Research*, 32, 43-51. <https://www.academia.edu/download/93844316/rar32.6.pdf>
- Bernousi, I., & Hasanzade Ghorttappe, A. (2018). Diallel analysis for dry forage yield among some alfalfa cultivars. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 26(2), 302-310. [10.22092/ijrfpbgr.2018.117977](https://doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2018.117977) [In Persian].
- Biazzi, E., Nazzicari, N., Pecetti, L., Brummer, E. C., Palmonari, A., Tava, A., & Annicchiarico, P. (2017). Genome-wide association mapping and genomic selection for alfalfa (*Medicago sativa*) forage quality traits. *Plos One*, 12(1), 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169234>
- dos Santos, I. G., Rocha, J. R. D. A. S. D. C., Vigna, B. B. Z., Cruz, C. D., Ferreira, R. D. P., Basigalup, D. H., & Marchini, R. M. S. (2020). Exploring the diversity of alfalfa within Brazil for tropical production. *Euphytica*, 216(72), 1-15. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02606-w>
- Escobar-Gutiérrez, A. J., & Ahmed, L. Q. (2023). Early detection of phenotypic diversity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in response to temperature. *Plants*, 12(18), 3224. <https://doi.org/10.3390/plants12183224>
- Gholizadeh, A., Dehghani, H., Amini, A., & Akbarpour, O. A. (2018). Study on trait relations of wheat genotypes using the Biplot method. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 49(3), 121-136. <https://doi.org/10.22059/IJFCS.2017.224744.654246> [In Persian].
- Hazegh Jafari, P., Aharizad, S., Mohammadi, S. A., Noormand Moayyed, F., & Behrooz, P. (2014). Grouping of Alfalfa genotypes based on different characteristics using multivariate statistical analysis. *Journal of Crop Breeding*, 6(14), 107-121. <https://www.sid.ir/paper/181160/en> [In Persian].
- Hoyos-Villegas, V., Wright, E. M., & Kelly, J. D. (2016). GGE Biplot analysis of yield associations with root traits in a Mesoamerican bean diversity panel. *Crop Science*, 56(3), 1081-1094. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.10.0609>
- Jing, F., Shi, S., Kang, W., Guan, J., Lu, B., Wu, B., & Wang, W. (2024). The physiological basis of alfalfa plant height establishment. *Plants*, 13(5), 679. <https://doi.org/10.3390/plants13050679>
- Julier, B., Huyghe, C., & Ecalte, C. (2000). Within-and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology, and yield. *Crop Science*, 40(2), 365-369. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.402365x>
- Kakaei, M., & Mazahery-Laghab, H. (2014). Evaluation of alfalfa (*Medicago Sativa* L.) germplasm using multivariate statistical analysis. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 22(1), 125-132. <https://doi.org/10.22092/IJRFPBGR.2014.7689> [In Persian].
- Khodarahmpour, Z., & Motamedi, M. (2016). Study of genetic diversity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes via multivariate analysis. *Journal of Crop Breeding*, 8(19), 163-169. <http://jcb.sanru.ac.ir/article-1-706-en.html> [In Persian].
- Kiliç, H., Kendal, E., & Aktaş, H. (2018). Evaluation of yield and some quality characters of winter barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using biplot analysis. *Agriculture & Forestry/Poljoprivreda i Sumarstvo*, 64(3), 101-111. https://www.academia.edu/download/70682202/20180930-09_20Kilic_20et_20al.pdf
- Kroonenberg, P. M. (1997). *Introduction to biplots for G × E tables. Research Report# 51. Centre for Statistics.* The University of Queensland, Brisbane, Qld, 4072.
- Laffont, J. L., Hanafi, M., & Wright, K. (2007). Numerical and graphical measures to facilitate the

- interpretation of GGE biplots. *Crop Science*, 47(3), 990-996. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.08.0549>
- Mehregan, I., Moussavi, M., & Nasrabadi, N. (2003). The genus *Medicago* in Iran: Biodiversity and variation centers. *Rostaniha*, 4(1), 11-12. https://rostaniha.areeo.ac.ir/article_103256.html [In Persian].
- Ministry of Jihad Agriculture (2023). *Agricultural statistics. Vol. 1: Crops. Statistics and information technology office, deputy of planning and economy*. Ministry of Jihad Agriculture. [In Persian].
- Moawed, M. M. (2016). Evaluation of morphological and anatomical characters for discrimination and verification of some *Medicago sativa* (L.) Cultivars. *Indian Journal of Agricultural Research*, 50(2), 183-192. <https://doi.org/10.18805/ijare.v50i2.9590>
- Mohaddesi, A., Erfani, R., Sharifi, P., Aminpanah, H., & Abbasian, A. (2017). Studying the relationships between yield and yield components and stability of some of rice genotypes using biplot method. *Cereal Research*, 6(4), 411-421. https://cr.guilan.ac.ir/article_2274.html?lang=en [In Persian].
- Mohammadi, R., Dehghani, H., & Karimzadeh, G. (2014). Graphic analysis of trait relations of cantaloupe using the Biplot method. *Journal of Plant Production Research*, 21(4), 43-62. https://jopp.gau.ac.ir/article_2180.html?lang=en [In Persian].
- Pégard, M., Barre, P., Delaunay, S., Surault, F., Karagić, D., Milić, D., Zorić, M., Ruttink, T., & Julier, B. (2023). Genome-wide genotyping data renew knowledge on genetic diversity of a worldwide alfalfa collection and give insights on genetic control of phenology traits. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1196134. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1196134>
- Pourshirazi, S., Soltani, A., Zeinali, E., Torabi, B., & Arshad, A. (2022). Assessing the sensitivity of alfalfa yield potential to climate impact under future scenarios in Iran. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(40), 61093-61106. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20287-x>
- Rameshknia, Y., Rashidi, V., Monirifar, H., & Sabbaghtazeh, E. (2024). Genetic diversity analysis of tetraploid Alfalfa (*Medicago sativa* subsp. *sativa* L.) populations collected from north-west regions of Iran using simple sequence repeat markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10722-024-01858-y>
- Rezaei, M., MaaliAmiri, R., Naghavi, M. R., Mohammadi, R., & Kaboli, M. M. (2010). Evaluation of phenotypic diversity in ecotypes of alfalfa (*Medicago sativa*) from Iran. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 41(1), 123-129. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20103289143> [In Persian].
- Sabaghnia, N., Yousefzadeh, S., & Janmohammadi, M. (2024). Graphical evaluation of genetic diversity among some genotypes of *lepidium sativum* L. using morphological traits. *Taxonomy and Biosystematics*, 15(57), 43-54. [10.22108/tbj.2024.139710.1243](https://doi.org/10.22108/tbj.2024.139710.1243)
- Sayed, M. R., Alshallash, K. S., Safhi, F. A., Alatawi, A., ALshamrani, S. M., Dessoky, E. S., Althobaiti, A.T., Althaqafi, M. M., Gharib, H. S., Shafie, W. W., & Awad-Allah, M. M. (2022). Genetic diversity, analysis of some agro-morphological and quality traits and utilization of plant resources of alfalfa. *Genes*, 13(9), 1521. <https://doi.org/10.3390/genes13091521>
- Shi, K., Dong, H., Du, H., Li, Y., Zhou, L., Liang, C., Şakiroğlu, M., & Wang, Z. (2024). The chromosome-level assembly of the wild diploid alfalfa genome provides insights into the full landscape of genomic variations between cultivated and wild alfalfa. *Plant Biotechnology Journal*, 22(6), 1757-1772. <https://doi.org/10.1111/pbi.14300>
- Touil, L., Guesmi, F., Fares, K., Zagrouba, C., & Ferchichi, A. (2008). Genetic diversity of some Mediterranean populations of the cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) using SSR markers. *Pakistan Journal of Biological Science*, 11(15), 1923-1928.

<https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.1923.1928>

Wang, Z., & Şakiroğlu, M. (2021). The origin, evolution, and genetic diversity of Alfalfa. In *The Alfalfa Genome* (pp. 29-42). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-74466-3_3

Yan, W., & Frégeau-Reid, J. (2008). Breeding line selection based on multiple traits. *Crop Science*, 48(2), 417-423. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.05.0254>

Yan, W., & Frégeau-Reid, J. (2018). Genotype by Yield*Trait (GYT) Biplot: a novel approach for genotype selection based on multiple traits. *Scientific Reports*, 8(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26688-8>

Yan, W., & Kang, M. S. (2002). *GGE biplot analysis: A graphical tool for breeders, geneticists, and agronomists*. CRC press, Boca Raton, FL, USA.

Yan, W., & Rajcan, I. (2002). Biplot analysis of test sites and trait relations of soybean in Ontario. *Crop Science*, 42(1), 11-20. <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.1100>

Zivkovic, B., Radovic, J., Sokolovic, D., Siler, B., Banjanac, T., & Strbanovic, R. (2012). Assessment of genetic diversity among alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes by morphometry, seed storage proteins and RAPD analysis. *Industrial Crops and Products*, 40, 285-291.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.03.027>