مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۹، شماره ۳، سال ۱۳۹۲

تنوع ژنتیکی جمعیت‌های اسپرس (*Onobrychis altissima* Grossh.) بانک ژن گیاهی ملی ایران بر اساس صفات زراعی و مورفولوژیکی

Genetic Diversity of *Onobrychis altissima* Grossh. Populations of the National Plant Gene Bank of Iran Based on Agronomic and Morphological Traits

راضیه ربیعی[۱] و فرنگیس قنواتی[۲]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه اصلاح نباتات، تهران
۲- دانشیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۴/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۲۱

چکیده

ربیعی، ر. و قنواتی، ف. ۱۳۹۲. تنوع ژنتیکی جمعیت‌های اسپرس (*Onobrychis altissima* Grossh.) بانک ژن گیاهی ملی ایران بر اساس صفات زراعی و مورفولوژیکی. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۹:** ۴۸۱ - ۴۶۷.

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در کلکسیون اسپرس بانک ژن گیاهی ملی ایران، تعداد ۱۳۷ جمعیت اسپرس زراعی (*Onobrychis altissima* Grossh.) در قالب طرح آگمنت با ۳ شاهد در سال ۱۳۸۸ در مزرعه آزمایشی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج کاشته شدند. محاسبات آماری مشتمل بر برآورد پارامترهای میانگین، انحراف معیار، ضریب تغییرات صفات، شاخص شانون، محاسبات ضرایب همبستگی و دسته‌بندی خوشه‌ای انجام شد. نتایج تنوع قابل توجهی در صفات مورد مطالعه نشان داد. صفت نسبت برگ به ساقه در مقایسه با سایر صفات برای تشخیص جمعیت ها تنوع پذیرتر و صفات طول و عرض نیام از تنوع کمتری برخوردار بودند. دو صفت وزن صد دانه و ارتفاع گیاه در ۵۰٪ گلدهی همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان دادند. تجزیه خوشه‌ای براساس صفات اندازه گیری شده با استفاده از روش وارد، ۱۳۷ جمعیت را در شش گروه قرارداد. تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها با پراکندگی جغرافیایی آن‌ها مطابقت نداشت. با توجه به درصد انحراف میانگین از میانگین کل، جمعیت‌های موجود در کلاستر دوم به علت میزان بالای شاخص نسبت برگ به ساقه نسبت به میانگین کل حائز اهمیت بودند و می‌توانند برای افزایش پروتئین و کیفیت علوفه اسپرس در برنامه‌های به‌نژادی مورد توجه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، تجزیه خوشه‌ای، تنوع ژنتیکی، صفات زراعی و مورفولوژیکی، همبستگی.

نویسنده مسئول: farangisghanavati@yahoo.com تلفن: ۰۲۶۳۲۷۰۱۲۶۰

مقدمه

جنس اسپرس در ایران حدود ۶۹ گونه و زیرگونه یکساله و چندساله دارد که دارای ارزش علوفه‌ای و مرتعی فوق‌العاده هستند و در مناطق مختلف آب و هوایی پراکنش یافته‌اند (Mabberley, 1997). اسپرس یا Sainfoin به زبان فرانسه به معنی علوفه سالم است که به خاصیت این گیاه در تغذیه دام‌های بیمار اشاره دارد. سوارس و همکاران (Soares *et al*., 2000) اسپرس را به عنوان گیاهی بیابانی، مقاوم به خشکی و شوری، پر محصول، با ارزش علوفه‌ای در حد یونجه و مناسب برای اکوسیستم‌های خشک و بیابانی معرفی کرده‌اند. گونه *Onobrychis altissima* گیاهی است پایا، دارای ریشه‌های طویل، ضخیم، قوی، خشبی و مستقیم و از گونه‌های خوشخوراک، پرتولید، مقاوم به خشکی و سازگار در انواع خاک‌های کم عمق و سنگلاخی می‌باشد که در برخی مناطق کشور به صورت زراعی می‌روید. این گونه بومی ارمنستان بوده و در غالب مناطق اطراف دریای مدیترانه، مخصوصاً خاورمیانه رشد می‌کند و به عنوان یکی از منابع تولید کننده عسل در اقصی نقاط جهان به شمار می‌آید. این گونه غنی از تانن متراکم در برگ‌ها بوده که باعث جلوگیری از تجزیه پروتئین در شکمبه دام شده و باعث کاهش تخمیر شکمبه‌ای و جذب پروتئین بیشتر در روده کوچک دام می‌شود (Hesamzadeh Hejazi and Ziaei Nasab, 2009).

اسپرس در ایران پراکنش وسیعی دارد و به دلیل خصوصیات مطلوب از جمله تحمل به تنش‌های زیستی و کیفیت علوفه از دیرباز در بسیاری از مناطق کشور به ویژه استان‌های اردبیل، کردستان، شهرکرد، آذربایجان شرقی و غربی، اصفهان، تهران، قزوین و زنجان برای تولید علوفه استفاده می‌شده است (Baghaie-Nia *et al*., 2010).

در اسپرس نیز همچون سایر گیاهان زراعی، تولید ارقام دارای عملکرد بالا با کیفیت مطلوب و مقاوم به آفات و بیماری‌ها از مهم‌ترین اهداف به‌نژادی محسوب می‌شود (Kehr and Gardner, 1960). دگرگشن بودن، وجود گل‌های کوچک و پلی پلوئید بودن از دلایلی است که از تولید ارقام هیبرید در اسپرس جلوگیری می‌کند، ولی شواهد تئوری و تجربی در گیاهان مشابه نشان داده است که تلاقی افراد یا جمعیت‌های دور و متنوع می‌تواند منجر به ایجاد هتروزیس و نمود بهتر نسبت به والدین شود، بنابراین شناسایی والدین مناسب برای توسعه رقم‌های ترکیبی در دستور کار به‌نژادگران قرار دارد که این امر مستلزم بررسی دقیق تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌باشد (Brummer, 1999).

با توجه به اهمیت تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های اسپرس تاکنون مطالعات متعددی با اهداف متفاوت روی این گونه انجام شده است. از جمله در آزمایشی که توسط هوانگ و

همکاران (Hwang *et al.*, 1992) بر روی تعداد متعددی از توده‌های اسپرس انجام شد از نظر چندین صفت از جمله عملکرد و اجزای آن اختلاف معنی‌داری بین توده‌های مورد آزمایش مشاهده شد. در مطالعه دیگری که روی ویژگی‌های ریخت‌شناسی، تشریحی و بیوشیمیایی میوه‌ها و دانه‌های Onobrychis به منظور بررسی تنوع بین و درون گونه‌ای آن‌ها در ایتالیا انجام شد، پنج آرایه از شش گونه Onobrychis مورد بررسی قرار گرفتند. براساس این مطالعه ویژگی‌های ریخت‌شناسی میوه گوناگونی درون گونه‌ای بالایی داشت (Cenci *et al.*, 2000). نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در بررسی تنوع نمونه‌های گونه اسپرس (*Onobrychis sativa*) توسط عبدی و مداح عارفی (Abdi and Maddah Arefi, 2004)، اختلاف معنی‌داری را بین نمونه‌های مورد آزمون، نشان داد. مجیدی و ارزانی (Majidi and Arzani, 2009) با بررسی میزان تنوع صفات مورفولوژیک، زراعی و کیفی در توده‌های اسپرس (*Onobrychis viciifolia* Scop.) دریافتند توده‌های ارومیه و سراب بالاترین کیفیت را از نظر نسبت برگ به ساقه و توده گلپایگان بیشترین درصد پروتئین خام عملکرد را دارند و توده‌های فریدن، خوانسار و گلپایگان حداکثر عملکرد خشک را تولید کردند. مهاجر و همکاران (Mohajer *et al.*, 2011) همبستگی مثبت و معنی‌داری میان عملکرد ماده خشک با عملکرد دانه، ارتفاع گیاه، تعداد ساقه و طول گل‌آذین در ده جمعیت از گونه *Onobrychis sativa* به دست آوردند و دریافتند عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری با صفات ارتفاع گیاه، تعداد ساقه و طول گل‌آذین دارد.

ارزیابی تنوع ژنتیکی بر مبنای صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و زراعی می‌تواند برای سازماندهی ژرم‌پلاسم، گزینش والدین مناسب برای دورگ‌گیری و تولید جمعیت‌های در حال تفرق سودمند باشد (Bagheri *et al.*, 2008). گرچه اصلاح و استفاده از ارقام علوفه‌ای اصلاح شده طی چند دهه پیشرفت‌هایی کرده است، با این وجود اصلاح گیاهان علوفه‌ای در مقایسه با سایر گیاهان زراعی به ویژه غلات از توجه کمتری برخوردار بوده است. در مطالعات انجام شده روی گیاه اسپرس به عنوان یکی از مهم ترین گیاهان علوفه‌ای خانواده بقولات تنها به بررسی اختلاف بین توده‌ها اکتفا شده است و این که منشأ تنوع محیطی و یا ژنتیکی بوده و چه میزان از آن در برنامه‌های به‌نژادی قابل استفاده است و نیز ارتباط بین صفات با یک دیگر کمتر مورد توجه بوده است. لذا ارزیابی جمعیت ها از نظر صفات مختلف به منظور استفاده از تنوع ژنتیکی موجود در این جمعیت‌ها در طرح‌های اصلاحی آینده، ضروری به نظر می‌رسد (Majidi, 2001). هدف از این مطالعه ارزیابی

تنوع ژنتیکی تعدادی از جمعیت‌های گونه *Onobrychis altissima* موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران از نظر صفات زراعی و مورفولوژیکی و در نهایت گروه‌بندی این ذخایر ژنتیکی به منظور استفاده از این جمعیت ها در برنامه‌های دورگ‌گیری بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه آزمایشی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج (´۱۰ °۵۱ شرقی، ´۴۸ °۳۵ شمالی و ارتفاع ۱۳۲۱ متر از سطح دریا)، در سال زراعی ۱۳۸۸ در قالب طرح ارزیابی مقدماتی آگمنت به همراه سه رقم شاهد اقلید، اردبیل و اصفهان روی ۱۳۷ جمعیت متعلق به گونه *Onobrychis altissima* که از طرف بانک ژن گیاهی ملی ایران تأمین شده بود، اجرا شد. زمین آزمایش در سال زراعی قبل به صورت آیش بود. هرکدام از جمعیت‌ها در کرت‌هایی به طول ۲ متر و عرض ۱ متر کشت شدند. فاصله بین بوته‌ها ۱۵ × ۱۵ سانتی‌متر و میزان بذر مصرفی ۴۰-۳۰ بذر در مترمربع بود. تمامی مراقبت‌های زراعی در طول دوره رشد گیاهان از قبیل سله شکنی، آبیاری، وجین دستی علف های هرز و کوددهی انجام شد تا گیاهان برای بررسی صفات زراعی و مورفولوژیکی از رشد مطلوبی برخوردار باشند. ارزیابی صفات از فروردین ماه ۱۳۸۹ آغاز و مجموعه‌ای از صفات زراعی شامل ارتفاع گیاه در ۵۰٪ گلدهی، تعداد گره در ۵۰ ٪ گلدهی، تعداد برگ در ۵۰٪ گلدهی، تعداد برگچه در هر برگ، تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی، طول گل‌آذین، تعداد گل‌آذین در هر ساقه، طول دمگل آذین، وزن صد نیام، وزن صد دانه، نسبت دانه به نیام، طول نیام، عرض نیام، طول برگچه انتهایی، عرض برگچه انتهایی، طول برگچه جانبی و عرض برگچه جانبی و صفات مورفولوژیکی شامل عادت رشدی، کرکپوش گیاه، رنگ ساقه، شکل گل‌آذین، رنگ گلبرگ، رنگ دانه، رنگ نیام، خارهای نیام، شکل برگچه انتهایی و شکل برگچه جانبی در طول فصل زراعی مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور مطالعه صفات تعداد پنج بوته تصادفی از میانه هر کرت انتخاب و میانگین صفات آنها مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. به منظور تعیین یکنواختی زمین آزمایشی، تجزیه واریانس به روی شاهدها به طور جداگانه انجام شد. ضریب تغییرات و شاخص شانون که مقدار تنوع را به ترتیب در صفات کمی و کیفی نشان می‌دهند، برای هر صفت محاسبه شدند (Shannon, 1986). برای محاسبه شاخص شانون از فرمول زیر استفاده شد: $I=-\Sigma(Xi.Logz\ Xi)$ که در این فرمول، I شاخص شانون، Z تعداد گروه‌ها در هر صفت و Xi فراوانی هر گروه در آن صفت است. همبستگی ساده برای کلیه صفات محاسبه شد. برای صفاتی که به صورت رتبه‌ای یادداشت شده بودند از همبستگی اسپیرمن و برای صفات دیگر (صفات غیر رتبه‌ای) از همبستگی پیرسون

استفاده شد. تجزیه کلاستر به روش وارد و معیار فاصله اقلیدسی انجام شد. محاسبه‌های فوق با استفاده از برنامه های نرم‌افزاری SPSS و SAS انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس شاهدها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین کلیه صفات ارزیابی شده در بین بلوک‌ها وجود ندارد و از این رو تصحیحی روی صفات برای اثر بلوک انجام نشد.

پارامترهای آماری صفات مورد بررسی

با توجه به نتایج حاصل از آمار توصیفی، صفت نسبت برگ به ساقه در جمعیت های مورد بررسی، در بین کلیه صفات ارزیابی شده، بیشترین ضریب تنوع (۸۷/۶۷) را به خود اختصاص داد (جدول ۱). این صفت با میانگین ۲/۹۲، حداقل ۰/۷۷ و حداکثر ۱۵/۲۷ دامنه وسیعی از تنوع را در بین نمونه های مورد بررسی از خود بروز داد. در بین صفات مورد مطالعه طول و عرض نیام به ترتیب با ضرایب تنوع ۷/۳۵ و ۶/۲۵ درصد دارای کمترین میزان تنوع بودند، بنابراین جمعیت های مورد بررسی از نقطه نظر نسبت برگ به ساقه که در عملکرد، میزان کیفیت و پروتئین یک گیاه می تواند مؤثر باشد، از تنوع قابل ملاحظه‌ای برخوردار بودند. وجود این تنوع، کارایی بالای روش‌های اصلاحی را در بهبود این صفات و صفات مرتبط با آن‌ها نوید می‌دهد. تورچی و همکاران (Toorchi *et al.*, 2007) نیز تنوع فنوتیپی و ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای برای برخی صفات به ویژه نسبت برگ به ساقه (خوش خوراکی) در خانواده‌های ناتنی اسپرس در منطقه تبریز گزارش کردند که با نتایج حاصل مطابقت دارد. به منظور اندازه گیری تنوع صفات مورفولوژیک که تحت تأثیر تعداد گروه های فنوتیپی است با محاسبه شاخص نسبی شانون بیشترین میزان تنوع مربوط به صفت شکل برگچه جانبی و کمترین میزان تنوع مربوط به صفت عادت رشدی بود که به ترتیب ۹۱٪ و ۴٪ تنوع موجود در جمعیت را توجیه کردند (جدول ۲).

همبستگی صفات

نتایج ضرایب همبستگی دو به دوی صفات ارزیابی شده در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که ارتفاع گیاه همبستگی مثبت و معنی‌داری با صفات تعداد گره، تعداد برگچه در هر برگ، طول گل‌آذین، طول نیام، طول برگچه انتهایی، وزن ۱۰۰ نیام و وزن ۱۰۰ دانه دارد. به عبارت دیگر با افزایش ارتفاع گیاه، طول گل‌آذین و در نتیجه آن آن تعداد گل‌آذین، وزن نیام و وزن دانه افزایش خواهد یافت. ضریب همبستگی صفت وزن ۱۰۰ دانه با صفات ارتفاع گیاه در ۵۰٪ گلدهی ($r = ۰/۶۴^{**}$)، تعداد گره در ۵۰٪ گلدهی ($r = ۰/۶۲^{**}$)، طول نیام ($r = ۰/۵۳^{**}$)، وزن ۱۰۰ نیام ($r = ۰/۸۲^{**}$) و نسبت بذر به نیام ($r = ۰/۵۰^{**}$) در جهت مثبت و

جدول۱- مقادیر پارامترهای آماری صفات زراعی جمعیت‌های *Onobrychis altissima*

Table 1. Descriptive statistics for agronomic traits of *Onobrychis altissima* populations

Traits	صفات	میانگین کل Grand Mean	حداقل Min.	حداکثر Max.	انحراف معیار Standard deviation	ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)
Plant height at 50% flowering	ارتفاع گیاه در ۵۰٪ گلدهی	87.26	49.67	104.67	9.50	10.88
Number of nodes at 50% flowering	تعداد گره در ۵۰٪ گلدهی	7.43	4.33	9.33	0.99	13.32
Number of leaves at 50% flowering	تعداد برگ در ۵۰٪ گلدهی	11.32	7.67	17.67	2.02	17.84
Number of leaflets per leaf	تعداد برگچه در هر برگ	17.80	9.00	23.00	2.37	13.31
Inflorescence length	طول گل‌آذین	10.58	5.50	21.33	2.39	22.58
Number of Inflorescences per stem	تعداد گل‌آذین در هر ساقه	5.49	3.00	11.00	1.17	21.31
Peduncle length	طول دمگل‌آذین	16.23	8.50	26.33	3.00	18.48
Pod length	طول نیام	0.68	0.47	0.80	0.05	7.35
Pod width	عرض نیام	0.48	0.39	0.60	0.03	6.25
Terminal leaflet length	طول برگچه انتهایی	2.20	1.23	3.03	0.36	16.36
Terminal leaflet width	عرض برگچه انتهایی	0.58	0.27	1.00	0.13	22.41
Lateral leaflet length	طول برگچه جانبی	2.02	1.13	2.90	0.32	15.84
Lateral leaflet width	عرض برگچه جانبی	0.79	0.50	1.13	0.14	17.72
100 Pod weight	وزن ۱۰۰ نیام	3.38	1.27	3.40	0.31	9.17
100 Seed weight	وزن ۱۰۰ دانه	1.73	1.00	2.57	0.26	15.02
Seed/pod ratio	نسبت دانه به نیام	0.73	0.34	1.08	0.08	10.95
Days of 50% flowering	تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی	63.29	44.67	90.67	9.07	14.33
Stem.leaf ratio	نسبت برگ به ساقه	2.92	0.77	15.27	2.56	87.67

جدول ۲- شاخص شانون و شاخص نسبی شانون برای صفات مورفولوژیک جمعیت‌های *Onobrychis altissima*

Table 2. Shannon index and Shannon relative index (%) for morphological traits of *Onobrychis altissima* populations

Traits	صفات	شاخص شانون Shannon index	شاخص نسبی شانون Shannon relative index (%)
Growth habit	عادت رشدی	0.04	4
Stem color	رنگ ساقه	0.08	29
Inflorescence shape	شکل گل‌آذین	0.16	54
Petal color	رنگ گلبرگ	0.09	16
Seed color	رنگ بذر	0.52	87
Pod color	رنگ نیام	0.39	65
Pod spines	خارهای نیام	0.34	57
Terminal leaflet shape	شکل برگچه انتهایی	0.54	77
Lateral leaflet shape	شکل برگچه جانبی	0.54	91
Powdery mildew susceptibility	حساسیت به سفیدک پودری	0.44	63

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات زراعی جمعیت‌های *Onobrychis altissima*

Table 3. Correlation coefficients between agronomic traits of *Onobrychis altissima* populations

Traits	PHe	NN	NL	NLI	IL	NI	PL	PLe	PWi	TLL	TLW	LLL	LLW	100PW	100SW	S.P	DF
NN	0.53**																
NL	0.41*	0.54**															
NLI	0.43**	0.07	0.36*														
IL	0.52**	0.09	0.14	0.07													
NI	0.15	-0.88	0.08	0.05	0.008												
PL	0.50*	-0.02	0.004	0.05	0.53**	-0.07											
PLe	0.57**	0.49*	0.07	0.09	0.11	-0.13	0.14										
PWi	0.42*	0.21	0.03	0.37*	0.04	-0.10	0.14	0.74**									
TLL	0.14	0.14	0.37*	-0.06	0.005	-0.01	0.04	0.09	-0.05								
TLW	0.15	0.03	0.04	0.02	0.07	0.06	0.05	-0.06	-0.14	0.55**							
LLL	0.53**	0.05	0.08	-0.06	-0.006	0.03	0.06	0.08	0.02	0.37*	0.08						
LLW	0.11	0.02	0.08	-0.12	-0.40*	0.09	0.01	0.07	0.02	0.40*	0.13	0.59**					
100PW	0.62**	0.52**	0.02	0.16	0.03	-0.05	0.38*	0.52**	0.51**	0.08	0.04	-0.01	0.02				
100SW	0.64**	0.62**	0.002	0.02	0.05	-0.11	0.14	0.53**	0.40*	0.37*	0.10	0.07	0.08	0..82**			
S.P	0.08	0.04	-0.01	-0.12	0.003	-0.09	-0.03	-0.04	-0.09	0.08	0.06	0.12	0.08	-0.53**	0.60**		
DF	0.08	-0.16	0.004	0.03	-0.02	-0.13	-0.003	0.06	0.11	0.08	-0.08	-0.07	0.02	-0.008	-0.11	-0.12	
LSR	0.39	0.37*	-0.06	0.02	0.38*	-0.07	0.01	0.07	0.07	-0.06	-0.004	-0.12	-0.004	0.18*	0.07	-0.08	-0.10

* and **: Significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

* و**: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

PHe: Plant Height at 50% flowering, NN: Number of Nodes at 50% flowering, NL: Number of Leaves at 50% flowering, NLL: Number of Leaflets per Leaf, DF: Days of 50% Flowering, IL: Inflorescence Length, NI: Number of Inflorescences per stem, PL: Peduncle Length, 100 PW: 100 Pod Weight, 100 SW: 100 Seed Weight, S.P: Seed. Pod ratio, PLe: Pod Length, PWi: Pod Width, TLL: Terminal Leaflet Length, TLW: Terminal Leaflet Width, LLL: Lateral Leaflet Length and LLW: Lateral Leaflet Width.

در سطح یک درصد و با صفات عرض نیام (r =۰ /۴۰*) و طول برگچه انتهایی (r =۰ /۴۷*) در جهت مثبت و در سطح پنج درصد معنی دار بود. با توجه به نتایج به دست آمده، صفات ارتفاع گیاه و وزن ۱۰۰ دانه در افزایش وزن دانه گیاهان هر کرت مؤثر بوده و در واقع این دو جزء تأثیر بیشتری بر وزن دانه گیاهان هر کرت دارند. بیشترین همبستگی معنی‌دار از نظر صفات مورفولوژیک نیز (جدول ۴) مربوط به صفت عادت رشدی با شکل گل‌آذین (r =۰ /۵۹**) در جهت مثبت و کمترین همبستگی معنی‌دار بین عادت رشدی و شکل برگچه پایین (r = −۰/۳۷*) در جهت منفی بود. بدین ترتیب در مواقعی که امکان اندازه‌گیری یک صفت وجود ندارد، می‌توان با اندازه‌گیری صفتی دیگر که با صفت مورد نظر همبستگی دارد نسبت به اندازه‌گیری غیرمستقیم آن صفت اقدام کرد و در جهت بهبود صفت مورد نظر گام برداشت. ترک و سلیک (Turk and Celik, 2006) درگونه *Onobrychis sativa* که بیشترین شباهت را به گونه *Onobrychis altissima* دارد، بین ارتفاع بوته با تعداد ساقه، تعداد گل‌آذین، تعداد بذر در گل‌آذین و وزن نیام همبستگی مثبت و معنی‌داری را به دست آوردند که با نتایج این تحقیق تا حدودی مطابقت دارد.

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین صفات مورفولوژیک جمعیت‌های *Onobrychis altissima*

Table 4. Correlation coefficient between morphological traits of *Onobrychis altissima* populations

Traits	GH	SC	IS	PC	SCo	PCo	PS	TLS	LLS
SC	0.03								
IS	0.59**	-0.11							
PC	-0.20*	0.58**	-0.44**						
SCo	-0.03	0.12	-0.04	0.06					
PCo	-0.02	0.005	0.023	-0.07	0.04				
PS	-0.004	0.07	0.13	-0.06	-0.04	0.15			
TLS	0.008	-0.05	-0.01	0.03	-0.04	-0.09	-0.04		
LLS	-0.37*	0.40*	-0.13	0.06	-0.38*	0.01	-0.07	-0.02	
PM	-0.53**	-0.03	0.08	-0.03	0.09	0.12	0.11	-0.05	-0.08

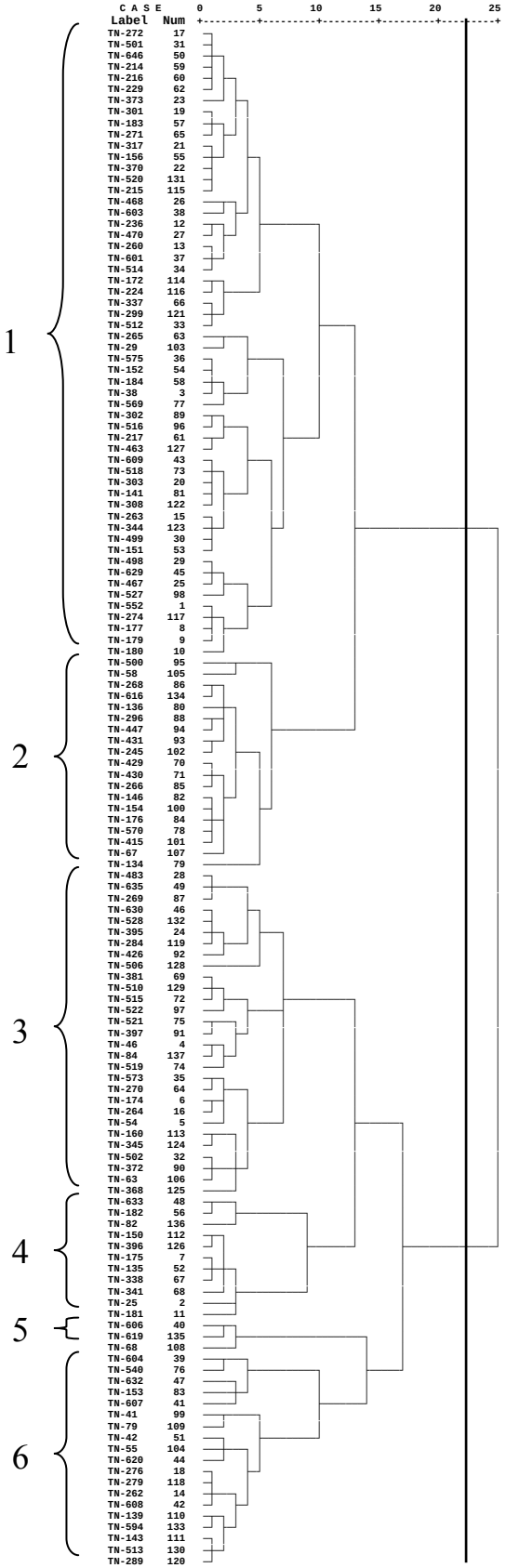
* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

* and **: Significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

GH: Growth Habit, PH: Plant Hairiness, SC: Stem Color, IS: Inflorescence Shape, PC: Petal Color, SCo: Seed color, PCo: Pod Color, PS: Pod Spines, TLS: Terminal Leaflet Shape and LLS: Lateral Leaflet Shape.

تجزیه خوشه‌ای

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای صفات مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. جهت اطمینان از صحیح بودن مکان برش (cut of line) و یا صحیح قرار گرفتن هر جمعیت در دسته مربوط به خود از تجزیه تابع



شکل ۱- دندروگرام مربوط به گروه‌بندی جمعیت‌های *Onobrychis altissima* به روش Ward

Fig. 1. Dendrogram related to classification of *Onobrychis altissima* populations using Ward's method

تشخیص استفاده شد. با برش دندروگرام حاصل از روش وارد در فاصله ۱۲ واحد، جمعیت‌های *O. altissima* در شش کلاستر مجزا قرار گرفتند. کلاستر اول بزرگ‌ترین کلاستر و شامل ۵۶ جمعیت، کلاستر دوم ۱۹ جمعیت، کلاستر سوم ۲۹ جمعیت، کلاستر چهارم ۱۱ جمعیت، کلاستر پنجم ۳ جمعیت و کلاستر ششم ۱۹ جمعیت را در خود جای دادند. در این تحقیق به منظور بررسی سهم هجده صفت مورد مطالعه در ایجاد کلاسترها، میانگین و انحراف از میانگین کل هر کلاستر برای کلیه صفات محاسبه شد (جدول ۵). ارزش فنوتیپی کلاستر اول برای کلیه صفات به جز تعداد برگچه در ۵۰ ٪ گلدهی، تعداد روز تا ۵۰ ٪ گلدهی، تعداد گل‌آذین و نسبت برگ به ساقه دارای میانگین بیشتر از میانگین کل بود. همچنین میانگین این کلاستر از نظر صفات مهمی از جمله ارتفاع گیاه در ۵۰٪ گلدهی، طول دمگل آذین، وزن صد نیام، وزن صد دانه، طول نیام و عرض نیام بالاتر از میانگین کل و میانگین سایر گروه‌ها بود. بنابراین جمعیت‌های موجود در این کلاستر را می‌توان با در نظر گرفتن اثر متقابل سایر صفات برای برنامه‌های به‌نژادی افزایش عملکرد در گیاه مورد استفاده قرار داد. ارزش فنوتیپی کلاستر دوم برای صفات تعداد برگ در ۵۰٪ گلدهی، تعداد برگچه در ۵۰٪ گلدهی، تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی، طول دمگل‌آذین، طول برگچه جانبی و عرض برگچه جانبی دارای ارزش میانگین کمتر از میانگین کل و برای دیگر صفات ارزشی بیشتر از میانگین کل داشت. نکته قابل توجه در این کلاستر این است که شاخص نسبت برگ به ساقه بیشترین انحراف را از میانگین کل و میانگین سایر گروه‌ها دارد. در گیاهانی همچون یونجه و اسپرس نسبت برگ به ساقه جزء یکی از صفات بسیار مهم و مؤثر بر کیفیت علوفه است در نتیجه جمعیت‌های موجود در این کلاستر می‌توانند برای افزایش پروتئین و کیفیت علوفه اسپرس در برنامه‌های به‌نژادی مورد بهره‌برداری قرار گیرند. کلاستر سوم نیز از نظر صفات تعداد گره در ۵۰٪ گلدهی، تعداد برگ در ۵۰٪گلدهی، تعداد برگچه در ۵۰٪ گلدهی، طول گل‌آذین، تعداد گل‌آذین، طول برگچه انتهایی و عرض برگچه انتهایی دارای ارزشی بیشتر از میانگین کل و برای سایر صفات دارای ارزش کمتر از میانگین کل بودند. در این کلاستر میانگین صفات تعداد برگ در ۵۰٪ گلدهی، تعداد برگچه در ۵۰٪ گلدهی و تعداد گل‌آذین بالاترین میانگین را از میانگین سایر گروه‌ها را داشتند. این صفات می‌توانند به عنوان صفاتی که سبب خوش خوراکی علوفه مورد نیاز دام شده مورد توجه بیشتر به‌نژادگران علوفه قرار گیرند. در کلاستر چهارم به جز صفات تعداد گره در ۵۰٪ گلدهی، تعداد روز تا ۵۰ ٪ گلدهی، نسبت دانه به نیام، طول برگچه انتهایی، عرض برگچه انتهایی، طول برگچه جانبی و عرض برگچه جانبی میانگین سایر صفات پایین‌تر از میانگین کل بودند. از نظر طول دمگل‌آذین و نسبت برگ به ساقه

جدول ۵- میانگین و انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل برای صفات زراعی جمعیت‌های *Onobrychis altissima* در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای

Table 5. Mean and mean deviation of total mean for agronomic traits of *Onobrychis altissima* populations based on cluster analysis

گروه Cluster	شماره جمعیت‌ها Number of populations	ارتفاع گیاه در ۵۰٪ گلدهی PHE (cm)	تعداد گره در ۵۰٪ گلده‌ی NN	تعداد برگ در ۵۰٪ گلدهی NL	تعداد برگچه در هر برگ NLI	تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی DF	طول گل‌آذین IL (cm)	تعداد گل‌آذین در هر ساقه NI	طول دمگل‌آذین PL (cm)	وزن صد نیام 100 PW (g)
گروه ۱ Cluster 1	17,31,50,59,60,62,23,19,57,65,21,55,22,131,115,27,13, 37,34,114,116,66,121,33,63,103,36,5458,3,77,89,26 38,12,96,61,127,43,73,20,81,122,15,123,30,53,29 45,25,98,1,117,8,9,10	90.60	7.51	11.54	17.77	62.85	11.01	5.23	17.50	2.51
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		3.34	0.08	0.22	-0.03	-0.44	0.43	-0.27	1.26	0.13
گروه ۲ Cluster 2	95,105,86,134,80,88,94,93,102,70,71,85,82,100, 84,78,101,107,79	90.09	8.05	11.04	17.60	60.98	11.40	5.56	15.73	2.50
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		2.83	0.62	-0.28	-0.20	-2.31	0.82	0.06	-0.51	0.12
گروه ۳ Cluster 3	72,97,75,91,28,49,87,46,132,24,119,92,128,69,129,4, 137,74,35,64,6,16,5,113,124,32,90,106,125	85.40	7.56	12.59	19.23	61.90	11.03	6.09	15.64	2.29
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		-1.86	0.13	1.27	1.43	-1.39	0.45	0.59	-0.60	-0.09
گروه۴ Cluster 4	48,56,136,112,126,7,52,67,68,2,11	85.27	7.45	10.88	15.24	64.36	9.17	5/27	14.00	1.99
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		-1.99	0.02	-0.44	-2.56	1.07	-1.41	-0.23	-2.24	-0.39
گروه۵ Cluster 5	40,135,108	55.78	5.11	8.89	11.44	65.33	8.78	5.56	15.67	1.49
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		-31.48	-2.23	-2.43	-6.36	2.04	-1.80	0.06	-0.57	-0.89
گروه۶ Cluster 6	99,109,51,104,44,18,118,14,42,110,133,111,130 120,39,76,47,83,41	83.56	6.72	9.67	18.42	68.09	8.93	5.44	15.32	2.40
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		-3.70	-0.71	-1.65	0.62	4.80	-1.65	-0.06	-0.92	0.02
میانگین کل Total mean		87.26	7.43	11.32	17.80	63.29	10.58	5.50	16.24	2.38

Table 5. Continued

ادامه جدول ۵

گروه Cluster	شماره جمعیت‌ها Number of populations	وزن صد دانه 100SW (g)	نسبت دانه به نیام S/P (%)	طول نیام PLe (cm)	عرض نیام PWi (cm)	طول برگچه انتهایی TLL (cm)	عرض برگچه انتهایی TLW (cm)	طول برگچه جانبی LLL (cm)	عرض برگچه جانبی LLW (cm)	نسبت برگ به ساقه LSR
گروه ۱ Cluster 1	17,31,50,59,60,62,23,19,57,65,21,55,22,131,115,27,13, 37,34,114,116,66,121,33,63,103,36,5458,3,77,89,26 38,12,96,61,127,43,73,20,81,122,15,123,30,53,29 45,25,98,1,117,8,9,10	1.87	0.74	0.71	0.50	2.27	0.61	2.07	0.80	2.02
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		0.14	0.01	0.03	0.02	0.07	0.03	0.05	0.01	-0.91
گروه ۲ Cluster 2	95,105,86,134,80,88,94,93,102,70,71,85,82,100, 84,78,101,107,79	1.80	0.73	0.70	0.50	2.10	0.55	2.05	0.84	7.76
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		0.07	0.00	0.02	0.02	-0.10	-0.03	0.03	0.05	4.83
گروه ۳ Cluster 3	72,97,75,91,28,49,87,46,132,24,119,92,128,69,129,4, 137,74,35,64,6,16,5,113,124,32,90,106,125	1.63	0.72	0.64	0.46	2.25	0.62	1.90	0.73	2.72
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		-0.10	-0.01	-0.04	-0.02	0.05	0.04	-0.12	-0.06	-0.21
گروه۴ Cluster 4	48,56,136,112,126,7,52,67,68,2,11	1.63	0.83	0.65	0.45	2.53	0.65	2.25	0.91	1.51
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		-0.10	0.10	-0.03	-0.03	0.33	0.07	0.05	0.12	-1.42
گروه۵ Cluster 5	40,135,108	1.03	0.70	0.60	0.44	2.07	0.43	1.78	0.64	0.89
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		-0.70	-0.03	-0.08	-0.04	-0.13	-0.15	-0.24	-0.15	2.04
گروه۶ Cluster 6	99,109,51,104,44,18,118,14,42,110,133,111,130 120,39,76,47,83,41	1.58	0.67	0.67	0.49	1.84	0.48	1.95	0.77	2.20
انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل Mean deviation of total mean		-0.15	-0.06	-0.01	0.01	-0.36	-0.10	-0.07	-0.02	-0.73
میانگین کل Total mean		1.73	0.73	0.68	0.48	2.20	0.58	2.02	0.79	2.93

PHE: Plant Height at 50% flowering, NN: Number of Nodes at 50% flowering, NL: Number of Leaves at 50% flowering, NLL: Number of Leaflets per Leaf, DF: Days of 50% Flowering, IL: Inflorescence Length, NI: Number of Inflorescences per stem, PL: Peduncle Length, 100 PW: 100 Pod Weight, 100 SW: 100 Seed Weight, S/P: Seed/Pod ratio, PLe: Pod Length, PWi: Pod Width, TLL: Terminal Leaflet Length, TLW: Terminal Leaflet Width, LLL: Lateral Leaflet Length, LLW: Lateral Leaflet Width and LSR: Leaf/Stem ratio.

کلاستر چهارم دارای بیشترین انحراف منفی از میانگین کل بوده. کم بودن میانگین نسبت برگ به ساقه این کلاستر را می‌توان تا حدودی به منفی بودن ارزش انحراف از میانگین کل صفات تعداد برگ در ۵۰٪ گلدهی، تعداد برگچه در ۵۰٪گلدهی و طول گل‌آذین نسبت داد. سه جمعیت (TN-606)، (TN-619) و (TN-68) کلاستر پنجم را تشکیل دادند. همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود این کلاستر از نظر اکثر صفات شامل ارتفاع گیاه در ۵۰٪ گلدهی، تعداد گره در ۵۰٪ گلدهی، تعداد برگ در ۵۰٪ گلدهی، تعداد برگچه در هربرگ، طول گل‌آذین، وزن صد نیام، وزن صد دانه، طول نیام، عرض نیام، عرض برگچه انتهایی، طول برگچه جانبی و عرض برگچه جانبی بالاترین انحراف منفی را از میانگین کل و میانگین سایر گروه ها داشت. در نتیجه جمعیت‌های موجود در کلاستر مذکور را می‌توان به عنوان یکی از والدین در برنامه‌های دورگ‌گیری مورد استفاده قرار داد. کلاستر ششم با ۱۹ جمعیت از نظر صفات تعداد برگچه در هر برگ، تعداد روز تا ۵۰ ٪ گلدهی، وزن صد نیام و عرض نیام بالاتر از میانگین کل و از نظر سایر صفات پایین تر از میانگین کل بودند. میانگین صفت تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی در این گروه بالاتر از میانگین این صفت در سایر گروه‌ها بود بنابراین برای افزایش این صفت می‌توان از این گروه استفاده کرد. از مجموع نتایج به دست آمده چنین استنباط می‌شود که جمعیت‌های کلاستر اول و کلاستر پنجم بیشترین فاصله ژنتیکی را از همدیگر دارند که می‌توان از آن‌ها در تلاقی‌های والدینی و گزینش‌های دوره‌ای استفاده کرد. بررسی جمعیت‌های قرار گرفته داخل کلاسترها مشخص کرد الگوی پراکنش جمعیت‌ها با توزیع جغرافیایی آن‌ها مطابقت نداشت و از نظر مکانی، همه نمونه‌های جمع‌آوری شده از یک شهر در یک گروه قرار نگرفتند. بر اساس بررسی‌های انجام شده توسط نخجوان و همکاران (Nakhjavan *et al.*, 2011) ۳۴ جمعیت اسپرس (*Onobrychis sativa*) در چهار گروه طبقه‌بندی شدند. در این مطالعه نیز کلاستر دوم عملکرد پایین اما نسبت برگ به ساقه بالایی داشت که توانست جنبه‌های پیشنهادی با ارزشی برای به‌نژادگران داشته باشد. به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که بین جمعیت‌های مورد مطالعه تنوع ژنتیکی معنی‌داری وجود دارد و برخی از جمعیت‌ها از نظر صفت نسبت برگ به ساقه که در عملکرد، میزان پروتئین و کیفیت یک گیاه مؤثر است، از تنوع قابل ملاحظه‌ای برخوردار بودند که می‌توانند منشأ تولید ارقام اصلاح شده باشند. جمعیت هایی که دارای نسبت برگ به ساقه بیشتری باشند، از نظر عملکرد علوفه و میزان خوش خوراکی نیز مطلوب خواهند بود. در کل جمعیت TN-134 از نظر این صفت مطلوب و جهت دورگ گیری قابل توصیه هستند. علاوه بر این، استفاده از روش تجزیه کلاستر در تمایز

جمعیت‌ها به زیر گروه‌های مشابه براساس صفات مورفولوژیکی و زراعی نیز به صورت مطلوب عمل کرد.

References

Abdi, N., and Maddah-Arefi, H. 2004. Study of variation and seed deterioration of *Onobrychis sativa* germplasm, in natural resources genebank . Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 11(2): 181-200 (in Persian).

Baghaie-Nia, M., Majidi, M. M., and Mirlohi, A. 2010. Effects of induced mutation on general combining ability and association of traits in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 18 (2): 181-198 (in Persian).

Bagheri, N., Babaeian-Jelodar, N., and Hasan-Nataj, E. 2008. Genetic diversity of Iranian rice germplasm based on morphological traits. Iranian Journal of Agronomic Research 6(2): 235-243 (in Persian).

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

Cenci, C. A., Bassi, G., Ferranti, F., and Romano, B. 2000. Some morphometrical and biochemical characteristics of fruits and seeds of *Onobrychis* ssp. in Italy. Plant Biosystems 134: 91-98.

Hesamzadeh Hejazi, S.M., and Ziaei Nasab, M. 2009. Cytogenetic study on several populations of diploid species of Onobrychis in natural gene bank of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 16(2): 158-179 (in Persian).

Hwang, S. F., Berg, B. P., Haward, R. J., and McAndrow, D. W. 1992. Screening of sainfoin cultivars and lines for yield, winter hardness and resistance to fusarium crown and root rot in east central Alberta. Canadian Plant Disease Survey 72: 107-111.

Kehr, W.R., and Gardner, C. O. 1960. Genetic variability in Ranger alfalfa. Agronomy Journal 52: 41-44.

Mabberley, D. J. 1997. The Plant Book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants, ed. 2, Cambridge, UK.

Majidi, M. M. 2001. Evaluation of genetic diversity for agronomical and qualitative traits and effect of induced mutation via Ethyl- Methan Sulfonat (EMS) in Sainfoin. MSc. Thesis, College of Agriculture, Isfahan University of Industry, Isfahan, Iran (in Persian).

Majidi, M. M., and Arzani, A. 2009. Evaluation of yield potential and genetic variation of morphological, agronomic and qualitative traits in sainfoin populations (*Onobrychis viciifolia* Scop.). Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 13: 563-568 (in Persian).

Mohajer, S., Jafari, A. A., and Taha, R. M. 2011. Studies on seed and forage yield in 10 populations of sainfoin (*Onobrychis sativa*) grown as spaced plants and swards. J. Food Agric. Environ. 9: 222-227.

Nakhjavan, S., Bajolvand, M., Jafari, A. A., and Sepavand, K. 2011. Variation for yeild and quality traits in populations of sainfoin (*Onobrychis sativa*). American-Eurasian Journal Agricultural and Environmental Science 10: 380-386.

Shannon, M. C. 1986. New insights in plant breeding efforts for improved salt tolerance. Horticultural Tecnology 6: 96-99.

Soares, M. I. M., Kakhimov, S., and Shakirov, Z. 2000. Productivity of the desert legume ”Onobrychis”. Dryland Biotechnology Vol. 6.

Toorchi, M., Ahari zad, S., Moghadam, M., Etedali, F., and Tabae Vakili, S. H. 2007. Estimation of genetic parameters and combining ability of yield in sainfoin landraces. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 59 (4): 213-225 (in Persian).

Turk, M., and Celik, N. 2006. Correlation and path coefficient analyses of seed yield components in the sainfoin (*Onobrychis sativa* L.). Journal of Biological Sciences 6: 758-762.