نشریه زراعت شماره ۱۰۷، تابستان ۱۳۹۴

(پژوهش و سازندگی)

ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت های یونجه زراعی *(Medicago sativa L.)* با استفاده از تجزیه تشخیص کانونیکی

- حیدر عزیزی، دانشجوی دکتری اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان (نویسنده مسئول)
- بابک عبدالهی مندولکانی، دانشیار گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۹۲

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۸۲۴۰۹۲۶

پست الکترونیک نویسنده مسئول: Heydar.azizi@gmail.com

چکیده

این مطالعه برای ارزیابی و تشخیص منابع تنوع ژنتیکی و فنوتیپی در هشت جمعیت مختلف یونجه زراعی طرح ریزی شد. سیزده صفت مورفولوژیک و زراعی روی این جمعیتها اندازه گیری شد. این صفات شامل ارتفاع بوته، محتوای کلروفیل برگ، وزن تر کل، وزن خشک کل، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه، تعداد برگ، تعداد ساقه، نسبت تعداد برگ به تعداد ساقه، نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل بود. مجموعه اعداد حاصل به وسیله تجزیه تشخیص کانونیکی و روش کلاستر بندی تجزیه شدند. در این مطالعه، دو متغیر کانونیکی معنی دار بودند و متغیر کانونیکی که شامل وزن خشک برگ، وزن خشک کل، وزن تر کل، وزن تر برگ و وزن تر ساقه بود، بیشترین نقش را در تفکیک جمعیت ها داشت. متغیرهای کانونیکی برای گروه بندی جمعیت ها به سه گروه اصلی مورد استفاده قرار گرفتند. تجزیه تشخیص کانونیکی در شناسایی تنوع ژنتیکی و صفاتی که بهترین توصیف را از تنوع بین جمعیت ها داشتند، مفید واقع شد. صفات مؤثر شناسایی شده در تنوع بین جمعیت ها شامل وزن خشک برگ، وزن خشک کل، وزن تر کل، وزن تر برگ و وزن تر ساقه و همچنین ارتفاع بوته می باشند. تشخیص تنوع این صفات بین جمعیت های یونجه زراعی به اصلاحگر این اجازه را می دهد تا بر صفات مشخصی که موجب تنوع شده است، تمرکز کند. همچنین تجزیه کلاستر نیز جمعیت ها را به گروه های مشابه تفکیک نمود.

کلمات کلیدی: یونجه، تنوع ژنتیکی، تجزیه تشخیص کانونیکی، تجزیه کلاستر

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No:107 pp: 183-189

Assessment of genetic variation in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations using Canonical Discriminant Analysis

By:

- *H. Azizi , (Corresponding Author; Tel: 09148240926), Ph.D. student of University of Guilan*
- *B. Abdollahi, Associate Professor of Urmia University*

Received: September 2013 Accepted: January 2014

This study was conducted to assess sources of genetic and phenotypic variability of eight different alfalfa populations. Thirteen morphological and agronomic traits were measured on studied populations. The traits included plant Height, leaf chlorophyll content, total fresh weight, total dry weight, leaf fresh weight, leaf dry weight, stem wet weight, stem dry weight, number of stems, number of leaves, ratio of number of leaves to number of stem, ratio of leaf dry weight to stem dry weight and total dry weight: total wet weight ratio. Multivariate data set was analyzed by Canonical Discriminant Analysis (CDA) in combination with a clustering procedure. The first two canonical variables were significant and canonical variables indicated that leaf dry weight, total dry weight, total fresh weight, leaf fresh weight and stem fresh weight are the most differentiating traits among the studied traits of plant populations. The canonical variables were used for clustering the populations into three main groups. CDA was useful in identifying the genetic variation and the traits that better describe the variation among the alfalfa populations. Effective traits identified in the variation between populations included that leaf dry weight, total dry weight, total fresh weight, leaf fresh weight and stem fresh weight and plant height. Recognize the diversity of these traits among the cultivated alfalfa allow to plant breeders that focus on specific traits that contribute to variation. Cluster analysis was successful in differentiating the populations into similar main groups on the basis of the measured traits.

key Words: Alfalfa, Genetic variation, Canonical Discriminant Analysis, Cluster analysis

مقدمه

یونجه زراعی (*Medicago sativa* L.) در بین نباتات علوفه ای به علت کیفیت خوشخوراکی و غنی بودن از مواد پروتئینی و معدنی به عنوان مهمترین گیاه علوفه ای دنیا محسوب می شود (Tucak و همکاران، ۲۰۰۸). یونجه اهمیت زیادی در تغذیه دام ها و افزایش فرآورده های دامی دارد (Jafari و Goodarzi، ۲۰۰۷). یونجه زراعی (*M. sativa*) از گونه (*M. coerulea*) بومی جنوب غرب ایران و شرق آناتولی است و در بسیاری از منابع، مناطقی از ایران به عنوان مرکز تنوع و خاستگاه یونجه معرفی شده است (محمدی و همکاران، ۱۳۸۹). از طرفی افزایش تولید و بهبود کیفیت یونجه زراعی به استفاده موثر از تنوع منابع و بکارگیری آنها در برنامه های اصلاحی نیاز دارد و نیل به این هدف مستلزم حفاظت، ارزیابی، ثبت و تبادل این مواد است (رضایی و همکاران، ۱۳۸۹). بنابراین، بررسی تنوع ژنتیکی یونجه در این نواحی می تواند در پیشبرد اهداف فوق الذکر، مهم باشد. تنوع فنوتیپی وجود تفاوت فیزیکی قابل مشاهده در یک جمعیت می باشد و اجزای ژنتیکی و محیطی را شامل می شود. تفاوت های ژنوتیپی یکی از اجزای تنوع است که منجر به تنوع ژنتیکی میان افراد درون یک جمعیت یا بین جمعیت های درون یک گونه می شود و یکی از مهمترین نیازهای اصلاحگران می باشد. اساس فنوتیپ بر پایه صفات کمی و کیفی و به وسیله ترکیب ژنوتیپ و عکس العمل با محیط می باشد (Loos، ۱۹۹۳). اگر مشاهدات فنوتیپی بر اساس اندازه کافی نمونه باشد و صفات فیزیکی اندازه گیری شده تفاوت های معنی داری بین ارقام نشان دهند، آنها می توانند نماینده واقعی از میزان تنوع ژنتیکی باشند (Humphreys، ۱۹۹۱).

تجزیه تشخیص کانونیکی روشی مرکب از تجزیه به مؤلفه های اصلی و تجزیه همبستگی کانونیک است (Vaylay و Van Santen، ۲۰۰۲). تجزیه تشخیص کانونیکی ترکیبات خطی صفات اصلی که بیشترین تفاوت را بین گروه ها فراهم می سازد، مشخص می کند (Dillon و Goldstein، ۱۹۸۴). متغیرهای کانونیکی ترکیبات خطی صفاتی هستند که دارای بیشترین همبستگی چندگانه با هر گروه می باشند. همچنین متغیر های کانونیکی حتی اگر صفات اندازه گیری شده همبستگی بالایی با یکدیگر داشته باشند، با یکدیگر همبستگی ندارند. در تجزیه تشخیص کانونیکی، تفاوت گروه ها بر اساس همبستگی میان متغیر های مستقل (صفات اندازه گیری شده) و ارتباط آنها با متغیرهای وابسته (ارقام) می باشد (Vaylay و

Van Santen، ۲۰۰۲). تجزیه تشخیص کانونیکی می تواند اثرات بین جمعیت ها را از اثرات درون جمعیت ها به وسیله حداکثر کردن تشخیص بین جمعیت ها زمانی که در مقابل تنوع درون جمعیت ها آزمون می شود، را جدا کند (Riggs، ۱۹۷۳). بعد از تعیین تنوع درون جمعیتی، آماره مربع فاصله ماهالانوبیس (D^2) به عنوان یک شاخص که نشان دهنده تفاوت بین جمعیت هاست، استفاده می شود (Loos، ۱۹۹۳). همچنین این روش قادر است تنوع درون ارقام را که سبب اثرات محیطی و اثرات ژنتیکی است را جدا کند. این تشخیص به وسیله واریانس میان جمعیت ها به واریانس درون جمعیت ها به دست می آید (Rencher، ۱۹۹۲). از اطلاعات حاصل از تجزیه تشخیص کانونیکی می توان جهت گروه بندی توده ها و ارقام به زیر گروه های کوچکتر که شباهت زیادی درون آنها وجود دارد، استفاده نمود (Khattree و Naik، ۲۰۰۰). در واقع در استفاده از تجزیه کلاستر، تعیین مقدار شباهت درون گروهی و تعیین روشی برای تشکیل کلاسترها که بر پایه مقدار شباهت اندازه گیری شده است، لازم می باشد، اما در تجزیه تشخیص کانونیکی، اندازه گیری شباهت بطور مستقیم از متغیرهای کانونیکی محاسبه شده استفاده می شود. طوریکه مقدار میانگین متغیرهای کانونیکی به عنوان مراکز گروه ها تلقی می شوند (Yeater و همکاران، ۲۰۰۴). از روش های چند متغیره بر اساس صفات فنوتیپی، در سویا (*Glycine max* L.) (Bains و Sood، ۱۹۸۴)، لولیوم چند ساله (*Lolium perenne* L.) (Humphreys، ۱۹۹۱) و گونه های لولیوم (Loos، ۱۹۹۳) استفاده شده است.

با توجه به اینکه هیچ گزارشی مبنی بر ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت های مختلف یونجه زراعی با استفاده از تجزیه تشخیص کانونیکی ارائه نشده و از طرفی ارزیابی تنوع ژنتیکی بر مبنای صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و زراعی می تواند برای سازماندهی ژرم پلاسم، گزینش والدین مناسب برای دورگ گیری و تولید جمعیت های در حال تفرق سودمند باشد (Foundra و همکاران، ۲۰۰۰) و همچنین بنابر آنچه از منابع مختلف بر می آید، با توجه به اینکه در یونجه تنوع مطلوب و قابل قبولی در ذخایر توارثی از نظر اکثر صفات موجود است، هدف این مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت های مختلف یونجه زراعی بر اساس صفات فنوتیپی است.

مواد و روش ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه در سال زراعی ۱۳۹۰ در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار روی هشت جمعیت مختلف قره یونجه ملک کندی، قره یونجه ارومیه، محلی اصفهانی، بغدادی، همدانی، آذربایجان اردوبار، ترکیه ساکوئل و ترکیه ۱ اجرا شد (جدول ۱). هر جمعیت در ۵ خط ۵ متری با فاصله خطوط ۵۰ سانتیمتر کشت گردید. کرتهای آزمایشی با یک خط نکاشت از همدیگر جدا شدند. میزان بذر مصرفی بر مبنای ۲۵ کیلوگرم در هکتار محاسبه شد و در هر خط ۶ گرم و مجموعاً در هر واحد آزمایشی ۳۰ گرم بذر مصرف گردید. صفات مورد ارزیابی شامل ارتفاع بوته (سانتیمتر)، محتوای کلروفیل برگ، وزن تر کل (گرم)، وزن خشک کل (گرم)، وزن تر برگ (گرم)، وزن خشک برگ (گرم)، وزن تر ساقه (گرم)، وزن خشک ساقه (گرم)، تعداد برگ، تعداد ساقه، نسبت تعداد برگ به تعداد ساقه، نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل بود. تمام اندازه گیری ها در مرحله رسیدن به ۱۰٪ گلدهی انجام شد. میزان کلروفیل با دستگاه SPAD520 مدل Minolta Co اندازه گیری شد. برای اندازه گیری ارتفاع نمونه ها از هر تکرار پنج گیاه انتخاب و در مجموع ارتفاع ۱۵ گیاه اندازه گیری شد. برای اندازه گیری وزن تر از هر تکرار دو گیاه و در مجموع شش گیاه از هر جمعیت از قسمت طوقه جدا شده و پس از اندازه گیری وزن کل شش بوته، برگها جدا شده و وزن برگ و ساقه جداگانه اندازه گیری شد. برگ ها و ساقه ها برای مدت ۷۲ ساعت در آون ۷۲ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک برگ و ساقه محاسبه گردید. محاسبه تابع تشخیص کانونیکی بصورتی انجام می گیرد که نسبت شاخص اختلاف بین گروه ها به شاخص اختلاف درون گروه ها، حداکثر گردد (Rencher، ۲۰۰۲). به این ترتیب متغیر کانونیکی به دست می آید که ضرایب آن مقادیر بردار ویژه ماتریس $W^{-1}B$ است که W ماتریس مجموع مربعات درون گروهی و B ماتریس مجموع مربعات بین گروهی نمونه ها می باشد (Rencher، ۲۰۰۲). تفاوت بین مقدار مرکزی دو گروه برابر با فاصله ماهالانوبیس (D^2) است و بصورت زیر محاسبه می شود.

$$D^2 = (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2)' S^{-1} (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2)$$

که در آن S^{-1} معکوس ماتریس واریانس کوواریانس نمونه است و $\bar{Y}_1$ و $\bar{Y}_2$ به ترتیب بردارهای میانگین صفات اندازه گیری شده گروههای ۱ و ۲ است (Rencher، ۲۰۰۲). تجزیه کلاستر با نرم افزار SPSS 19.0 انجام گرفت. دندروگرام به روش حداقل واریانس وارد (Ward) و پس از استاندارد کردن داده ها بر اساس میانگین صفات برای هر جمعیت، ترسیم گردید. پس از برش دندروگرام صحت گروه بندی اولیه به دست آمده از تجزیه کلاستر با تابع تشخیص مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین تجزیه تشخیص کانونیک نیز به وسیله نرم افزار SAS 9.0 انجام گرفت.

جدول ۱- جمعیتهای یونجه مطالعه شده و منشأ آنها

جمعیت	منشأ	کد جمعیتهای مورد مطالعه
قره یونجه ملک کندی	ایران – خوی	GhM
قره یونجه ارومیه	ایران – ارومیه	GhO
محلی اصفهانی	ایران – اصفهان	Mes
بغدادی	ایران- کرمان	Bagh
همدانی	ایران – همدان	Ham
آذربایجان اردوبار	آذربایجان	Azord
ترکیه ساکوئل	ترکیه	TuS
ترکیه ۱	ترکیه	Tu1

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه کلاستر به روش حداقل واریانس وارد و معیار مربع فاصله اقلیدسی جمعیت های مورد بررسی در سه گروه مجزا قرار گرفتند (شکل ۱) و به منظور صحت گروهبندی های به دست آمده از روش تجزیه کلاستر از تابع تشخیص به روش کنار گذاری (Hold out) استفاده گردید. نتایج گروه بندی تابع تشخیص در جدول ۱ آمده است. تابع تشخیص نشان داد که تمامی جمعیت ها بطور صحیح گروه بندی شده اند و میزان موفقیت کل تابع تشخیص ۱۰۰ درصد بود. این مقدار را میزان موفقیت کل تابع تشخیص می گویند. میزان موفقیت نشان می دهد که تابع تشخیص تا چه حد در گروه بندی یا تشخیص بین گروه ها موفق بوده است (صفری و همکاران، ۱۳۸۷).

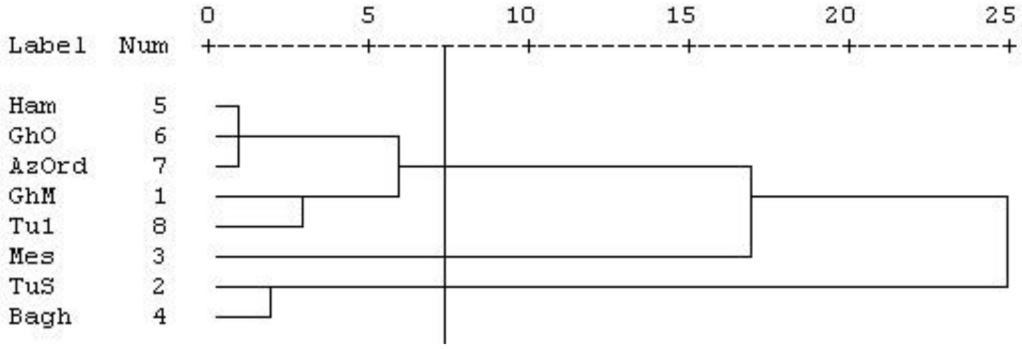
صفری و همکاران (۱۳۸۷) نیز در تحقیقی که بر روی داده های مزرعه ای بادام زمینی انجام دادند، ژنوتیپ های مورد مطالعه را در سه گروه دسته بندی کردند و با استفاده از تجزیه تابع تشخیص نشان دادند ۱۰۰ درصد از گروه بندی ها صحیح انجام گرفته بود. ولی در تحقیق دیگری که توسط جینز و همکاران (Jaynes و همکاران، ۲۰۰۳) بر روی ذرت انجام شد، ژنوتیپ های مورد بررسی در ۵ گروه دسته بندی شدند و نتایج تابع تشخیص نشان داد که ۸۰ درصد از گروهبندی ها صحیح انجام گرفته بود. در تجزیه تشخیص کانونیکی دو متغیر کانونیک اول معنی دار بودند ($p<۰/۰۰۰۱$) (جدول ۲). هر متغیر کانونیکی، ترکیب خطی مجموعه متغیرهای پیش بینی کننده و متغیرهای مجموعه اندازه گیری شده را محاسبه می کند (Vaylay و Van Santen، ۲۰۰۲). همبستگی های کانونیکی معنی دار بین جمعیت ها با اولین متغیر کانونیک ($Rc=۰/۹۱۶$) و دومین متغیر کانونیک ($R_c=۰/۸۰۱$) نشان دهنده این است که متغیرهای کانونیک تفاوت بین جمعیت ها را به خوبی توجیه می کنند (جدول ۲).

جدول ۱- نتایج تابع تشخیص برای صحت گروه‌بندی جمعیت‌های یونجه مورد مطالعه

گروهبندی		اعضای گروه ۱	۲	۳	جمع کل
اصلی	مجموع	۵	۰	۰	۵
		۱	۰	۱	۱
		۲	۰	۲	۲
	درصد	۱۰۰	۰	۰	۱۰۰
		۱۰۰	۰	۱۰۰	۱۰۰
		۱۰۰	۰	۱۰۰	۱۰۰

ضرایب تشخیص استاندارد شده کانونیکی، همبستگی خطی ساده بین متغیرهای اصلی و متغیرهای کانونیکی را محاسبه می کند. لذا ضرایب تشخیص استاندارد شده کانونیکی منعکس کننده واریانس مشترکی است که متغیرهای اندازه گیری شده با متغیرهای کانونیک دارند و می تواند در ارزیابی توجیه نسبی هر متغیر در هر معادله کانونیک مورد تفسیر قرار بگیرد (Cruz-Cas-tillo و همکاران، ۱۹۹۴). رنچر نیز توصیه می کند که برای تفسیر توابع تشخیص از ضرایب تشخیص استاندارد شده استفاده شود (Rencher، ۱۹۹۲). این ضرایب تأثیرات و سهم هر صفت (متغیر) را پس از حذف اثرات سایر صفات در توابع تشخیص بدست می دهد و در واقع می توان گفت که اثرات خالص هر صفت را در تابع تشخیص محاسبه می کند. ضرایب استاندارد شده کانونیکی صفات وزن خشک برگ، وزن خشک کل، وزن تر کل، وزن تر برگ و وزن تر ساقه در اولین معادله تشخیص کانونیکی قابل توجه است (جدول ۲). همچنین ضریب صفت ارتفاع بوته در دومین معادله تشخیص کانونیکی زیاد است (جدول ۲). این نتایج حاکی از این است که این صفات بیشترین تاثیر را در تنوع بین جمعیت های مورد مطالعه دارند و به عبارتی سهم بیشتری از تنوع بین این جمعیت ها بر اساس این صفات قابل توجیه می باشد.

از متغیرهای کانونیکی معنی دار اول و دوم برای گروه بندی جمعیت ها استفاده شد (شکل ۲). همان طور که در شکل ۲ مشاهده می شود، ۳ گروه کاملاً مجزا بدست آمد و فواصل این گروه ها به وسیله فاصله ماهالانوبیس محاسبه شد که در جدول (۳) آمده است. همه جفت فواصل بین گروه ها معنی دار بودند ($p<۰/۰۰۰۱$). هر گروه تنوع ژنتیکی درون گروهی کمی نسبت به تنوع بین گروهی دارد و در حقیقت جمعیت های داخل یک گروه فاصله ژنتیکی کمتری با یکدیگر دارند.

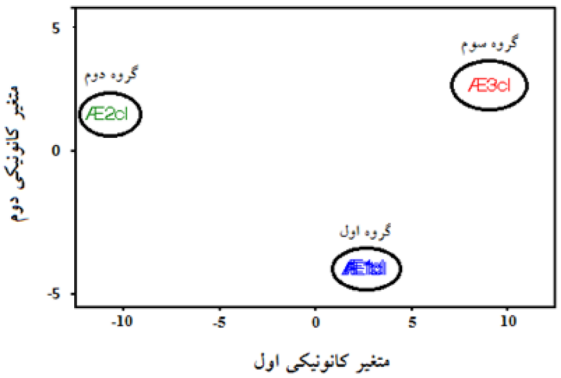


شکل ۱- دندروگرام ۸ جمعیت یونجه زراعی مبتنی بر ضرایب مربع فاصله اقلیدسی به روش Ward (GHM: قره‌یونجه ملک‌کندی، TuS: ترکیه ساکوئل، Bagh: بغدادی، Tu1: ترکیه ۱، AOrd: آذربایجان اردوبار، MEs: محلی اصفهانی، Ham: همدانی و GhO: قره‌یونجه ارومیه)

جدول ۲- ضرایب استاندارد کانونیکی صفات اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مورد مطالعه

ردیف	صفات	متغیر کانونیکی	
		۱	۲
۱	ارتفاع بوته (سانتی متر)	۰/۵۸۱	۰/۳۲۹
۲	محتوای کلروفیل برگ	-۰/۲۴۴	-۰/۲۴۰
۳	وزن تر کل (گرم)	۰/۹۵۲	۰/۱۱۰
۴	وزن خشک کل (گرم)	۰/۹۵۵	۰/۱۲۳
۵	وزن تر برگ (گرم)	۰/۹۵۱	۰/۰۲۸
۶	وزن خشک برگ (گرم)	۰/۹۶۵	-۰/۰۰۳
۷	وزن تر ساقه (گرم)	۰/۸۹۹	۰/۲۰۴
۸	وزن خشک ساقه (گرم)	۰/۸۹۴	۰/۲۱۶
۹	تعداد برگ	۰/۷۷۹	-۰/۰۵۹
۱۰	تعداد ساقه	۰/۵۸۵	۰/۲۶۱
۱۱	تعداد برگ / تعداد ساقه	۰/۵۴۳	-۰/۰۴۱
۱۲	وزن خشک برگ / وزن خشک ساقه	-۰/۰۴۰	-۰/۴۷۹
۱۳	وزن خشک کل / وزن تر کل	-۰/۱۶۹	-۰/۰۶۹
	همبستگی کانونیکی	۰/۹۱۶**	۰/۸۰۱**

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۲- گروه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس متغیرهای کانونیک معنی‌دار

گروه اول شامل ۵ جمعیت (جمعیت های همدانی، قره یونجه ارومیه، قره یونجه ملک کندی، آذربایجان اردوباد و ترکیه ۱) از ۸ جمعیت مطالعه شده است، گروه دوم دارای یک جمعیت (جمعیت محلی اصفهانی) و گروه سوم دارای ۲ جمعیت باقیمانده (جمعیت های ترکیه ساکوئل و بغدادی) است. به منظور مقایسه میانگین گروه ها از نظر صفات مورد ارزیابی، بعد از تجزیه واریانس بر اساس طرح کاملاً تصادفی نامتعادل به طوریکه گروه ها به عنوان تیمار و جمعیت های درون آنها به عنوان تکرار منظور گردید، از روش حداقل دامنه معنی دار (دانکن) استفاده شد. البته با توجه به اینکه گروه دوم شامل فقط یک جمعیت (جمعیت محلی اصفهانی) بود لذا برای انجام تجزیه واریانس از داده های کل ژنوتیپ های مربوط به جمعیت ها که هر جمعیت شامل ۱۰ ژنوتیپ بود، استفاده شد که نتایج حاکی از تفاوت معنی دار بین گروه ها برای تمامی صفات به جز صفات محتوای کلروفیل برگ، نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه و نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل بود (جدول ۴). میانگین صفات اندازه گیری شده برای هر گروه در جدول ۵ آورده شده است. جمعیت های گروه بندی شده در کلاستر سوم دارای بالاترین ارتفاع بوته، وزن تر کل، وزن خشک کل، وزن تر برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه، وزن خشک برگ، وزن تر برگ، تعداد برگ و تعداد ساقه بودند. که با توجه به اهمیت این صفات در عملکرد علوفه یونجه به نظر می رسد در این خصوص جمعیت های موجود در این کلاستر از اهمیت بالاتری برخوردار باشند. لازم به ذکر است که صفات ذکر شده، دارای ضرایب کانونیکی بزرگی نیز در متغیرهای کانونیک بودند (جدول ۲). ژنوتیپ های مربوط به جمعیت های درون این گروه با وجود عملکرد بالا به دلیل فاصله ژنتیکی کم، بهتر است با همدیگر تلاقی داده نشوند و در برنامه های به نژادی جهت ایجاد رقم هیبرید جهت حصول حداکثر هتروزیس بهتر است از افراد مربوط به جمعیتهایی که در گروه های متفاوت و دارای فاصله بیشتر (گروه ۲ و ۳ در این تحقیق) هستند، استفاده گردد. همچنین در گروه های با حداکثر فاصله از جمعیت های مربوط به این گروه ها که خود حداکثر فاصله ژنتیکی را نشان می دهند، نیز می توان به عنوان والدین هیبریدها بهره برد.

جدول ۳- فواصل ماهالانوبیس بین گروه‌ها

گروه	۱	۲	۳
۱	۰	۳۵/۲۴۹**	۴۲/۸۲۵**
۲		۰	۹۸/۲۵۶**
۳			۰

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۵- میانگین صفات اندازه‌گیری شده مربوط به گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر

ردیف	صفات	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	میانگین کل
۱	ارتفاع (سانتیمتر)	۹۱/۹[a]	۷۵/۸[b]	۱۰۲/۵[a]	۹۰/۱
۲	میزان کلروفیل	۷/۹[a]	۱۲/۱[a]	۶/۶[a]	۸/۸
۳	وزن تر کل (گرم)	۱۵۲/۶[a]	۶۲/۴[b]	۲۶۹/۱[a]	۱۶۱/۶
۴	وزن خشک کل (گرم)	۵۵/۵[a]	۲۱/۸[b]	۹۱/۳[a]	۵۵/۲
۵	وزن تر برگ (گرم)	۷۸/۹[a]	۳۱/۸[b]	۱۴۸/۴[a]	۸۶/۴
۶	وزن خشک برگ (گرم)	۲۲/۲[a]	۹/۶[b]	۴۱/۷[a]	۲۴/۵
۷	وزن تر ساقه (گرم)	۷۳/۶[a]	۳۰/۶[b]	۱۲۰/۶[a]	۷۴/۹
۸	وزن خشک ساقه (گرم)	۳۰/۳[a]	۱۲/۲[b]	۴۹/۷[a]	۳۰/۷
۹	تعداد برگ	۴۸۱۸/۴[ab]	۱۸۶۸/۵[b]	۹۹۵۳/۷[a]	۵۵۴۶/۸
۱۰	تعداد ساقه	۱۸/۳[a]	۱۰/۱[b]	۲۴/۸[a]	۱۷/۸
۱۱	تعداد برگ/تعداد ساقه	۲۸۳/۱[a]	۲۰۲/۹[a]	۴۲۵/۵[b]	۳۰۳/۸
۱۲	وزن خشک برگ/وزن خشک ساقه	۰/۷۶[a]	۰/۹۳[a]	۰/۸۹[a]	۰/۸۶
۱۳	وزن خشک کل/وزن تر کل	۰/۳۵[a]	۰/۳۶[a]	۰/۳۴[a]	۰/۳۵

بطور کلی نتایج این تحقیق نشان می دهد که بین جمعیت های مورد مطالعه تنوع ژنتیکی معنی داری وجود دارد که حاکی از ارزشمند بودن این ذخایر و لزوم توجه بیشتر در حفظ، نگهداری، ارزیابی و شناسایی آنهاست و همچنین برخی از جمعیت ها و ژنوتیپ های مربوط به آنها با داشتن توان تولید بالا و یا صفات مطلوب دیگر می توانند در برنامه های به نژادی مورد استفاده قرار بگیرند و منشأ تولید ارقام اصلاح شده باشند. تجزیه تشخیص کانونیکی نیز در محاسبه میزان تنوع و شناسایی صفات بسیار موثر در تنوع بین جمعیت های یونجه زراعی مورد بررسی موفق عمل کرد. صفات مؤثر شناسایی شده در تنوع بین جمعیت ها شامل وزن خشک برگ، وزن خشک کل، وزن تر کل، وزن تر برگ و وزن تر ساقه و همچنین ارتفاع بوته می باشند. تشخیص تنوع این صفات بین جمعیت های یونجه زراعی به اصلاحگر این اجازه را می دهد تا بر صفات مشخصی که موجب تنوع شده است، تمرکز کند. مسلماً استفاده از نشانگرهای ملکولی مختلف همراه با نشانگرهای مورفولوژیک جهت شناسایی چنین تنوعی در ژرم پلاسم یونجه های مطالعه شده بطور مؤثر و کاراتری می توانند در مدیریت نگهداری ژرم پلاسم ها و همچنین در شناسایی جمعیت های مناسب برای اهداف اصلاحی مختلف مفید باشند.

منابع مورد استفاده

۱. رضایی م، نقوی م ر و معالی امیری ر، (۱۳۸۹) ارزیابی تنوع ژنتیکی در اکوتیپهای یونجه زراعی (*Medicago sativa* L.) نواحی مرکزی و شرقی ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله علوم زراعی ایران، جلد دوازدهم، شماره ۴، صفحه های ۵۲۰-۵۳۲.

۲. صفری پ، هنرنژاد ر و اصفهانی م، (۱۳۸۷) ارزیابی تنوع ژنتیکی در ارقام بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) با استفاده از تجزیه تشخیص کانونیکی. مجله پژوهشهای زراعی ایران. جلد ششم، شماره ۲، صفحه های ۳۲۷-۳۳۴.

۳. محمدی ر، معالی امیری ر، نقوی م ر و کابلی م م، (۱۳۸۹) بررسی تنوع ژنتیکی بخشی از یونجه های زراعی (غرب و شمالغرب) ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. دو فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. جلد هجدهم، شماره ۱، صفحه های ۱-۱۱.

4. Bains, K. S. and Sood, K. C. (1984) Resolution of genetic divergence for choice of parents in soybean breeding. Crop Improv, 11:20–24.

5. Cruz-Castillo, J. G. Ganeshanandam, S. MacKay, B. R. Lawes, G. S. Lawoko, C. R. O. and Woolley, D. J. (1994) Applications of canonical discriminant analysis in horticultural research. Hort Science, 29: 1115–1119.

6. Dillon, W. R. and Goldstein, M. (1984) Multivariate Analysis Methods and Applications. John Wiley and Sons, New York.

7. Foundra, M. Z. Hernandez, M. Lopez, R. Fernandez, L. Sanchez, A. Lopez and J. and Ravelo, I. (2000) Analysis of the variability in collected peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars for the establishment of core collection. PGR Newsletter, 137: 1540-1544.

8. Humphreys, M. O. (1991) A genetic approach to the multivariate differentiation of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars. Heredity, 66:437–443.

9. Jafari, A. and Goodarzi, A. (2007) Genetic variation for yield and its relationships with quality and agronomic traits in 72 accessions of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 14(4): 215-229.

10. Jaynes, D. B. Kaspar, T. C. Colvin, T. S. and James, D. E. (2003) Cluster analysis of spatiotemporal corn yield patterns in an Iowa field. Agronomy Journal, 95 (3): 574-586.
11. Khattree, R. and Naik, D. N. (2000) Multivariate data reduction and discrimination with SAS software, SAS Institute Inc, Cary, NC.
12. Loos, B. P. (1993) Morphological variation in *Lolium* (Poaceae) as a measure of species relationships. Plant Syst. Evol, 188:87–99.
13. Rencher, A. C. (1992) Interpretation of canonical discriminant functions, canonical variates, and principal components. American Statistic, 46:217–225.
14. Rencher, A. C. (2002) Methods of Multivariate Analysis. John Wiley & Sons, Inc.
15. Riggs, T. J. (1973) The use of canonical analysis for selection within a cultivar of spring barley. Ann. Appl. Biol, 74: 249- 258.
16. Tucak, M. Popovic, S. Grljusic, S. Bolaric, S. and Kozumplic,V. (2008) Genetic diversity of alfalfa (*Medicago* spp.) estimated by molecular markers and morphological characters. Journal of Periodicum Biologorum, 110(3): 243–249.
17. Vaylay, R. and Van Santen E. (2002) Application of canonical discriminant analysis for the assessment of genetic variation in tall fescue. Crop Sci, 42:534–539.
18. Yeater, K. M. Bollero, G. A. Bullock, D. G. Rayburn, A. L. and Rodriguez-Zas, S. (2004) Assessment of genetic variation in hairy vetch using canonical discriminant analysis. Crop Sci, 44: 185-189.