DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2011.7436

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۹، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ٥٤-۳۹ (۱۳۹۰)

ارزيابي تنوع اکوتيپ‌هاي يونجه زراعي ايران براساس شاخص‌هاي کيفی علوفه

مهدی رضایی*[۱]، محمدرضا نقوی[۲]، رضا معالی امیری[۳]، رحمت محمدی[٤]، علی‌اشرف جعفری[٥] و محمدمهدی کابلی[٦]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس ارشد، زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
پست الکترونیک: rezaei.ut@gmail.com

۲- استاد، زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳- استادیار، زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

٤- کارشناس ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران

٥- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران

٦- استادیار، بخش علوفه، وزارت جهاد کشاورزی، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۰۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰٦/۲۱

چکیده

تعداد ٤۷ اکوتیپ یونجه زراعی نواحی مختلف ایران از لحاظ شاخص‌های کیفیت علوفه با استفاده از تکنیک طیف‌سنجی پراش نور قرمز (NIRS) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج همبستگی ساده بین صفات نشان داد که قابلیت هضم ماده خشک (DMD)، همبستگی مثبت و معنی‌دار با پروتئین خام (CP) (۰/٦۷) و همبستگی منفی و معنی‌دار با فیبر خام (CF) (۰/۵۱-) و میزان دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF) (۰/۹٦-) داشت. همچنین CP دارای همبستگی منفی و معنی‌دار با CF (۰/٦۰-) و ADF (۰/۵۲-) و CF نیز دارای همبستگی مثبت و معنی‌داری با ADF (۰/۳۷) بود. نتایج آزمون رگرسیون نشان داد که دو شاخص CF و مقدار قندهای محلول در آب (WSC)، ۷۰/٦ درصد تغییرات در میزان خاکستر علوفه را توجیه کردند که در آن، CF، ٦۳/۵ و WSC، ۷ درصد تغییرات را دربرداشت و بدین ترتیب کربوهیدرات‌ها به‌عنوان مهمترین عامل در تعیین میزان خاکستر کل علوفه شناسایی شدند. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که DMD، CP، ADF و انرژی متابولیسمی (ME) مهمترین شاخص‌های تعیین کیفیت علوفه می‌باشند و نمودار ترسیم شده براساس دو مؤلفه اول، پراکندگی و تنوع زیادی را بین توده‌های یونجه نشان داد. توده‌ها براساس جایگاه جغرافیایی به پنج گروه تقسیم شدند و فاصله ماهالانوبیس بین این جمعیت‌ها نشان داد که توده‌های آذربایجان‌شرقی، کردستان، کرمانشاه و ترکیه تفاوت آشکاری با دیگر اکوتیپ‌ها داشتند و توده‌های اصفهان و چهارمحال و بختیاری از نظر این شاخص‌ها به توده‌های کرمان، سیستان و بلوچستان و یزد شباهت دارند. گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از روش پیوستگی بین گروه‌ها انجام و دندروگرام مربوطه نشان داد که پراکندگی فراوانی از لحاظ شاخص‌های کیفیت علوفه در اکوتیپ‌های مورد مطالعه حتی در نمونه‌های یک استان وجود دارد. در مجموع نتایج نشان داد که ظرفیت‌های بالایی در انتخاب والدین مناسب در برنامه‌های اصلاح کیفی و استفاده از بنیه‌ی هتروزیس در اکوتیپ‌های یونجه وجود داشته و با توجه به نتایج همبستگی‌ها انتخاب گیاهان دارای صفات مطلوب کیفی امکان‌پذیر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: یونجه زراعی، کیفیت علوفه، تنوع ژنتیکی.

مقدمه

یونجه زراعی (*Medicago sativa*) مهمترین گیاه علوفه‌ای دنیا بوده و نقش مهمی در تغذیه دام و در نتیجه تأمین پروتئین مورد نیاز انسان دارد. مقدار و کیفیت مواد غذایی، میزان جذب بالا و سرعت بالای هضم یونجه باعث شده است که این گیاه در تغذیه گروه‌های مختلف حیوانات اهلی انتخاب شود (Lenssen *et al*., 1990). افزایش نسبتاً اندک در کیفیت علوفه می‌تواند کارایی تولید در دام را بهبود بخشیده و متعاقباً نیاز به خرید مکمل‌های غذایی را کاهش دهد (Hall *et al*., 2000). بهبود کیفیت علوفه یونجه همواره یکی از قدیمی‌ترین اهداف متخصصان اصلاح نباتات بوده است (Lenssen *et al*., 1990). ارقام اصلاح شده برای کیفیت علوفه در یونجه به صورت محدود از سال ۱۹۹۱ به صورت تجاری در دسترس کشاورزان قرار گرفته‌اند (Huset *et al*., 1991)، هرچند دلایل فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی درگیر در کیفیت برتر این ارقام مشخص نشده است (Hall *et al*., 2000). استفاده کارا و موفق از روش طیف‌سنجی پراش نور قرمز (NIRS) در مطالعه کیفیت علوفه برای اولین بار در سال ۱۹۷٦ توسط نوریس و همکاران آغاز شد (Fonseca *et al*., 1999a) و همواره در اندازه‌گیری سریع و ارزان کیفیت علوفه استفاده شده است (Huset *et al*., 1991., Fonseca *et al*., 1999a&b., Hall *et al*., 2000., Julier *et al*., 2000). اصلاح کیفی جمعیت‌های یونجه از سویی به دلیل دگرگشنی و اتوتتراپلوئیدی و از سویی دیگر به دلیل ارتباط مهم کیفیت علوفه با صفات دیگری مانند عملکرد علوفه، عملکرد بذر، مقاومت به آفات و بیماری‌ها، مقاومت به سرما و میزان خواب پاییزه همواره با مشکلات متعددی همراه می‌باشد (Julier *et al*., 2000). شناسایی و توسعه ارقام پرعملکرد با کیفیت علوفه بالا به دلیل همبستگی‌های منفی میان عملکرد و کیفیت علوفه، سخت و پیچیده می‌باشد (Julier & Huyghe, 1997) به طوری که انتخاب گیاهان در جهت میزان پروتئین بالا و فیبر کم ممکن است به طور معکوس، مقاومت به آفات و بیماری‌ها، توان گیاه و پایداری آن را تحت تأثیر قرار دهد (Fonseca *et al*., 1999b). کورس (۱۹۸٦) طرحی را جهت اصلاح همزمان کیفیت علوفه و صفات زراعی پیشنهاد کرد که در آن میزان پروتئین گیاهان سالم و قوی اندازه‌گیری شد و گیاهان با پروتئین بالا از لحاظ میزان فیبر مورد بررسی قرار گرفته و بدین ترتیب گیاهانی با خصوصیات زراعی خوب، میزان پروتئین بالا و فیبر کم، انتخاب شدند که این روش، شناسایی والدین برتر در تولید ارقام ساختگی را امکان‌پذیر می‌سازد. انتخاب کاراترین روش اصلاحی مستلزم مطالعه‌ی اثرات محیط روی کیفیت علوفه، حالت‌های مختلف کشت (متراکم و فاصله‌دار) و نحوه‌ی توارث صفات کیفی می‌باشد (Julier *et al*., 2000). در ایران به‌رغم وجود تنوع و ظرفیت بالای این گیاه، روند اصلاح کیفی علوفه در مراحل ابتدایی خود قرار دارد (مظفری و عباسی، ۱۳۸٤). هدف از این تحقیق بررسی تنوع موجود در یونجه‌های نواحی مختلف کشور از لحاظ شاخص‌های تعیین‌کننده کیفیت علوفه، بررسی همبستگی میان صفات جهت کاراتر نمودن فرایند انتخاب، تعیین مهمترین صفات مشخص کننده‌ی کیفیت علوفه و گروه‌بندی اکوتیپ‌ها جهت تعیین قرابت آنها بود.

مواد و روشها

این آزمایش با ٤٧ اکوتیپ یونجه زراعی نواحی مختلف ایران در قالب طرح مربع لاتیس با دو تکرار در

مزرعه‌ی پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج در سال ۱۳۸۷ انجام شد. بذرها از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان تهیه گردید (جدول ۱). هر اکوتیپ در چهار خط سه متری و با فاصله‌ی ۳۰ سانتیمتر در اردیبهشت‌ماه کشت گردید. کرت‌های آزمایشی حدود ٦٠ سانتیمتر از یکدیگر فاصله داشتند. در هر خط حدود یک گرم بذر (معادل ۱۱ کیلوگرم در هکتار) مصرف شد. در زمان ۱۰ درصد گلدهی گیاهان، از هر خط ۳ گیاه و در مجموع ٦ گیاه نمونه‌برداری شد. برگ‌های گیاهان مربوط به هر اکوتیپ جدا، با هم مخلوط و پس از خشک شدن در آون ۷۲ درجه سانتی‌گراد، آسیاب شده و ۱۰ گرم از آنها جهت اندازه‌گیری‌های کیفی با دستگاه NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) مدل INFRAMATIC8620 در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور به‌کار گرفته شد. اندازه‌گیری صفات کیفی براساس روش ارائه شده توسط جعفری و همکاران (۱۳۸۰) و (۲۰۰۳b) انجام شد. موارد اندازه‌گیری شده شامل: درصد ماده خشک قابل هضم (Dry Matter Digestibility) (DMD)، درصد قندهای محلول در آب (Water Soluble Carbohydrates) (WSC)، درصد پروتئین خام (Crude Protein) (CP)، درصد دیواره سلولی بدون همی سلولز (Acid (ADF) Detergent Fiber)، درصد خاکستر کل (Total (ASH) Ash)، درصد فیبرخام (Crude Fiber) (CF) و انرژی متابولیسمی (Metabolism Energy) (ME) بود. صفات فنوتیپی اندازه‌گیری شده شامل: ارتفاع بوته (H)، روز پس از اولین برداشت تا ۱۰ درصد گلدهی (D) و نسبت برگ به ساقه خشک (DL/S) بود.

فنآوری NIRS براساس جذب و انعکاس اشعه مادون قرمز در طول موج‌های بین ۲۵۰۰-۷۰۰ نانومتر استوار است. در این روش اشعه بر جسم تابیده می‌شود و انرژی منعکس شده (R) از نمونه، براساس LogL/R اندازه‌گیری می‌شود و براساس برازش معادلات خطی رگرسیونی چند متغیره بین انرژی‌های منعکس شده از جسم و داده‌های شیمیایی، با استفاده از طول موج‌های مختلف، دستگاه کالیبره می‌گردد. سپس براساس پارامترهای آماری هریک از معادلات (از قبیل ضرایب همبستگی و اشتباه استاندارد)، بهترین معادله برای کالیبراسیون انتخاب می‌شود (Jafari, 2003b). کلیه‌ی تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و MINITAB انجام شد.

جدول ۱- لیست اکوتیپ‌های یونجه زراعی مورد استفاده در مطالعات کیفی علوفه

شماره	کد دسترسی*	محل جمع‌آوری	شماره	کد دسترسی	محل جمع‌آوری
۱	٤۲	کوهپایه ۱	۲۵	۲۸۱	چهارمحال و بختیاری
۲	۳۹	کوهپایه ۲	۲٦	٤۳-۱	آذربایجان‌شرقی
۳	٤۷	کاشان ۱	۲۷	۲۱۹	مهاباد
٤	۱٤-۲	کاشان ۲	۲۸	٤۹-۲	کرمانشاه
۵	٤٤-۱	زرین شهر ۱	۲۹	۱۷۲	دیواندره
٦	٦۸	زرین شهر ۲	۳۰	٦۷	گرگان
۷	٦۱	فریدون‌شهر	۳۱	۱۲٦-۱	فزوه ۱
۸	۳۰ -۲	ورامین	۳۲	۱٤۷-۱	فزوه ۲
۹	٦۵-۱	کرج	۳۳	۱۲٦	فزوه ۳
۱۰	۱۸٤	همدان- اسدآباد	۳٤	۲٦۸	فزوه ٤
۱۱	۱۷۹	همدان	۳۵	٤۵	گلستانکوه
۱۲	۱۷٦	همدان- آب انبار	۳٦	۸	اصفهان
۱۳	۱۰۳	همدان- جفه	۳۷	۱۱-۱	کهریزسنگ
۱٤	۱٤۵	جیرفت	۳۸	۸۳	فلاورجان
۱۵	۳٦-۱	کرمان- شهر بابک	۳۹	۲۱۳	گلپایگان
۱٦	٦	سیرجان	٤۰	۱۸۲	ایتالیا ۱
۱۷	۱۸۸	رفسنجان	٤۱	۵۷	ایتالیا ۲
۱۸	۵٦-۲	بم	٤۲	۵٤-۲	ترکیه
۱۹	۳۲	تربت	٤۳	۱۹۹	بدون آدرس
۲۰	۲۵	سبزوار	٤٤	۸۸	بدون آدرس
۲۱	۲۹	گناباد	٤۵	۱۰۸	بدون آدرس
۲۲	۱۹۳	دامغان	٤٦	۳۸	بدون آدرس
۲۳	٤	سیستان و بلوچستان	٤۷	٤٦	بدون آدرس
۲٤	۲٤	یزد			

* بذرهای اکوتیپ‌ها با کدهای ارائه شده در جدول، از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان قابل دسترسی می‌باشد.

نتایج

تجزیه و تحلیل همبستگی صفات اندازه‌گیری شده

تحقیق حاضر به منظور بررسی وجود تنوع در جمعیت‌های یونجه و همچنین تعیین همبستگی صفات مورد مطالعه اجرا گردید. جدول ۲ ضریب همبستگی دو به دو صفات مورد نظر را نشان می‌دهد. درصد ماده خشک قابل هضم (DMD)، همبستگی مثبت و معنی‌دار با CP (۰/٦۷) و همبستگی منفی و معنی‌دار با CF (۰/۵۱-) و ADF (۰/۹٦-) داشت. نتایج نشان داد که رابطه معکوس میان DMD با CF و ADF در علوفه وجود دارد؛

CP همبستگی منفی و معنی‌داری با CF (۰/۶۰-) و ADF (۰/۵۲-) داشت که مطابق با نتایج تحقیقات گذشته در این خصوص بود. همبستگی بین CP و WSC نیز همانند DMD و CP پایدار نبوده و عوامل متعددی موجب تغییر آن می‌گردد. تجزیه داده‌ها عدم همبستگی بین CP و WSC را نشان داد که در تناقض با نتایج جعفری و ناصری (۲۰۰۷) بود. CF همبستگی مثبت و معنی‌داری با ADF (۰/۳۷) داشت. لازم به ذکر است که CF بیانگر کل فیبر گیاه و ADF بیانگر فیبر کل بدون همی‌سلولز می‌باشد. بنابراین هرچه CF بالاتر باشد میزان ADF نیز بالاتر خواهد بود. همچنین همبستگی مثبت و غیر معنی‌داری بین DMD و WSC مشاهده گردید. همبستگی منفی و معنی‌دار میان ارتفاع بوته و روز پس از برداشت تا ۱۰ درصد گلدهی مشاهده شد. همبستگی مثبت میان روز پس از اولین برداشت تا ۱۰ درصد گلدهی و نسبت وزن خشک برگ به ساقه نیز مشاهده گردید.

جدول ۲- ضرایب همبستگی دوگانه بین صفات کیفی و مورفولوژیکی

صفت	علائم اختصاری	CP	CF	WSC	ADF	ASH	H	D	DL/S
هضم‌پذیری ماده خشک	DMD	۰/۶۷**	-۰/۵۱**	۰/۱۴	-۰/۹۶**	۰/۳۳*	-۰/۰۲۷	۰/۲۴	۰/۰۹۷
پروتئین خام	CP		-۰/۶۰**	۰/۱۴	-۰/۵۲**	۰/۳۸**	-۰/۱۱	۰/۲۴	-۰/۱۳
فیبر خام	CF			-۰/۲۷	۰/۳۷**	-۰/۷۹**	۰/۰۵	-۰/۲۹*	-۰/۱۸
کربوهیدرات‌های محلول در آب	WSC				۰/۲۳	-۰/۰۴	-۰/۲۳	۰/۰۲	۰/۱۴
دیواره سلولی بدون همی‌سلولز	ADF					-۰/۱۴	۰/۰۰۷	-۰/۱۹	-۰/۱۲
خاکستر	ASH						۰/۰۷	۰/۱۸	۰/۱۵
ارتفاع	H							-۰/۴۷**	-۰/۲۳
روز پس از برداشت تا ۱۰٪ گلدهی	D								۰/۳۸**

*و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

رابطه خاکستر با شاخص‌های کیفی

در تجزیه رگرسیون به روش گام به گام (جدول ۳)، خاکستر (ASH)، نماینده کل ماده گیاهی به‌عنوان متغیر وابسته و بقیه شاخص‌ها به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که دو شاخص CF و WSC، ۷۰/۶ درصد تغییرات در ASH را توجیه کردند که در آن، CF، ۶۳/۵ و WSC، ۷ درصد تغییرات را دربرداشت. معادله‌ی ارتباط شاخص‌های CF و WSC با خاکستر در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳- تعیین مهمترین شاخص‌های کنترل‌کننده مقدار خاکستر گیاه و نوع ارتباط میان آنها با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام

گام	صفت	R^2	معادله
۱	CF	۰/٦۳٥	خاکستر =۰/۲٦۱- CF۱٥/٦٦۳
۲	WSC	۰/۷۰٦	خاکستر=۱۸/۷۰٦ CF-۰/۲۸٥ WSC-۰/۱٤۸

پراکنش اکوتیپ‌های یونجه

فاصله ماهالانوبیس (Mahalanobis Distance) فاصله و تفاوت گروه‌های جغرافیایی از یکدیگر را مشخص نمود (جدول ٤). در تعیین این فاصله، اکوتیپ‌های یک ناحیه جغرافیایی در یک گروه قرار گرفتند و در مجموع اکوتیپ‌ها به پنج گروه تقسیم شد. گروه اول: اصفهان و چهار محال و بختیاری؛ گروه دوم: تهران و همدان؛ گروه سوم: خراسان، سمنان و گلستان؛ گروه چهارم: کرمان، سیستان و بلوچستان و یزد. گروه پنجم: آذربایجان‌شرقی، کردستان و کرمانشاه و توده‌های خارجی. یونجه‌های زراعی، بومی غرب ایران و شرق ترکیه می‌باشد (Sauer, 1993) و گروه‌بندی توده‌های خارجی (ترکیه) و اکوتیپ‌های غربی ایران ممکن است نشان‌دهنده این ارتباط باشد.

نتایج نشان داد که گروه پنجم بیشترین فاصله را از بقیه گروه‌ها داشت. همچنین فاصله زیادی میان گروه دوم از سوم و چهارم مشاهده شد. فاصله کم گروه اول و چهارم نشان داد که اکوتیپ‌های مناطق اصفهان و چهارمحال و بختیاری از لحاظ کیفیت علوفه به اکوتیپ‌های کرمان، سیستان و بلوچستان و یزد نزدیک‌تر می‌باشند.

جدول ٤- تعیین فاصله میان اکوتیپ‌های مناطق جغرافیایی مختلف با یکدیگر با استفاده از آزمون ماهالانوبیس

گروه	۲	۳	٤	٥
۱	۱/۰۲۷	۱/۱۹	۰/۸۲	۳/۷
۲		۲	۱/٥٦	٤/۹٤
۳			۰/۹٥	۲/٦٦
٤				۱/۷۳

تعیین اولویت صفات در برنامه اصلاحی

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal Components Analysis)، صفات مورد بررسی را به چند گروه مجزا تقسیم‌بندی نمود که به‌ترتیب اولویت، صفاتی که بیشترین تغییرات را توجیه می‌کنند، در یک گروه قرار گرفتند. سپس یک نمودار دوبعدی براساس دو مؤلفه اول (PCA1, PCA2) که شامل مهم‌ترین صفات توجیه کننده‌ی تغییرات بودند، ترسیم شد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی چهار عامل مهم را مشخص نمود. واریانس هر کدام از مؤلفه‌های چهارگانه، درصد واریانس هر عامل نسبت به واریانس کل و واریانس تجمعی در جدول ٥ آمده است. مؤلفه‌های چهارگانه مجموعا، ۸۲/٥٦ درصد از اختلاف داده‌ها را توجیه کردند که مؤلفه اول ۳٤/۳۳ درصد از واریانس کل را توجیه نمود. نمودار دو بعدی براساس دو مؤلفه اول

(شکل۱) نشان داد که تنوع بالایی از نظر شاخص‌های کیفیت علوفه در نمونه‌های مورد مطالعه و حتی نمونه‌های جمع‌آوری شده از یک استان وجود دارد.

گروه‌بندی نمونه‌ها از لحاظ صفات کیفی

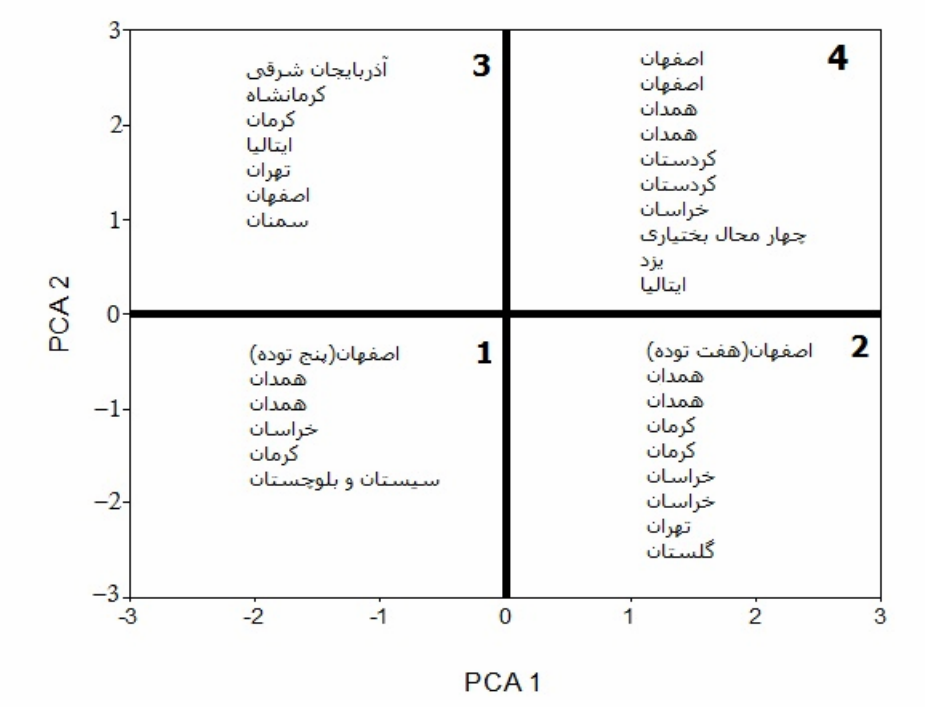
گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از روش پیوستگی بین گروه‌ها (Between-group Linkage) انجام شد و دندروگرام مربوطه ترسیم گردید (شکل ۲). تجزیه خوشه‌ای این امکان را فراهم می‌سازد که افراد براساس صفات مختلف طوری گروه‌بندی شوند که افراد با شباهت بیشتر در گروه‌های نزدیک به هم و افراد با شباهت کمتر در گروه‌های دور از هم قرار گیرند (فرشادفر و همکاران، ۱۳۸۷). دندروگرام نشان داد که حتی در نمونه‌های یک استان هم تنوع قابل ملاحظه‌ای وجود داشته و تنوع حاصل از شاخص‌های کیفیت علوفه با تنوع جغرافیایی هم‌پوشانی خوبی نشان نداد. در مطالعه حاضر، پنج اکوتیپ استان همدان با شماره ۲۴ تا ۲۸ گروه‌بندی متفاوتی داشتند، به طوری که سه توده در یک گروه و دو توده در گروهی دیگر قرار گرفتند. همچنین پنج توده‌ی استان کرمان نیز در دو گروه مستقل قرار گرفتند. چنین نتایجی در مورد نمونه‌های مربوط به استان اصفهان نیز مشاهده شد.

جدول ۵- نتایج مربوط به تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای تعیین مهمترین مؤلفه‌های تاثیرگذار در کیفیت علوفه یونجه و سهم هرکدام از مؤلفه‌ها

شاخص	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه سوم	مؤلفه چهارم
بردار ویژه	۳/۴۳	۱/۹۵	۱/۷۵	۱/۱۱
درصد واریانس	۳۴/۳۳	۱۹/۵۶	۱۷/۵۴	۱۱/۱۲
واریانس تجمعی	۳۴/۳۳	۵۳/۹	۷۱/۴۴	۸۲/۵۶

صفات	مقادیر ویژه			
هضم‌پذیری ماده خشک	۰/۹۷	۰/۱۹	۰/۰۷	۰/۰۱
پروتئین خام	۰/۶۶	۰/۴۲	۰/۰۰۲	۰/۱۱
فیبر خام	-۰/۳۴	-۰/۸۷	-۰/۱۴	-۰/۲۰
کربوهیدرات‌های محلول در آب	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۰۹	۰/۹۶
دیواره سلولی بدون همی‌سلولز	-۰/۹۶	-۰/۰۰۹	-۰/۰۵	-۰/۱۰
خاکستر	۰/۱۲	۰/۹۳	۰/۰۵	-۰/۱۱
ارتفاع	۰/۰۰۳	۰/۱۲	-۰/۷۳	-۰/۲۹
روز پس از برداشت تا ۱۰٪ گلدهی	۰/۱۹	۰/۱۵	۰/۸۳	-۰/۱۴
نسبت برگ به ساقه خشک	-۰/۰۱	۰/۱۱	۰/۶۹	۰/۰۲
انرژی متابولیسمی	۰/۹۷	۰/۱۹	۰/۰۷	۰/۰۱

* اعداد پررنگ نشان‌دهنده صفات شاخص در هر مؤلفه می‌باشد.

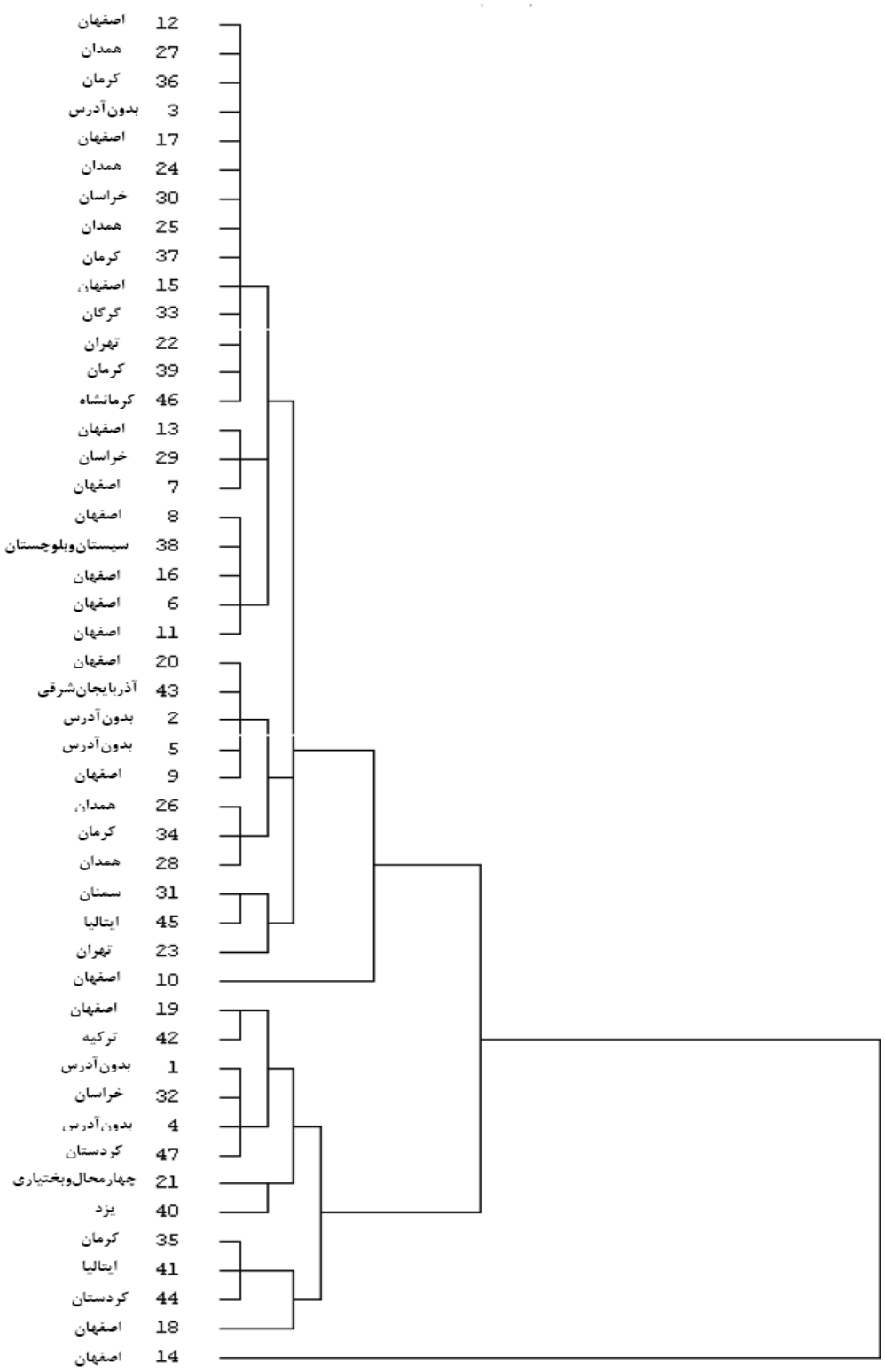


شکل ۱- نمودار دو بعدی ترسیم شده براساس مهمترین مؤلفه‌ها در آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای تعیین تنوع میان اکوتیپ‌ها

بحث

تجزیه و تحلیل همبستگی صفات اندازه‌گیری شده

همبستگی مثبت بین DMD و CP نشان می‌دهد که پروتئین‌های موجود در علوفه برای نشخوارکنندگان قابل هضم بوده و با بالا رفتن آن در گیاه انتظار می‌رود که قابلیت هضم افزایش یابد. فونسکا و همکاران (۱۹۹۹a) و ایمانی و همکاران (۱۳۸۷) همبستگی بین DMD و CP را مثبت و معنی‌دار گزارش نمودند. بررسی منابع در خصوص همبستگی بین این دو صفت نتایج متناقضی را نشان می‌دهد. محققان دیگری نظیر Marum و همکاران (۱۹۷۹) و Frandsen (۱۹۸٦) رابطه مثبت و معنی‌دار بین این دو صفت را ذکر کردند، در حالی که جعفری و همکاران (۲۰۰۳a) رابطه منفی را گزارش نمودند. نتایج تحقیقات Radojevic و همکاران (۱۹۹٤) نشان داد که رابطه بین این دو صفت به طور شدیدی تحت تأثیر اثرات محیطی مثل خشکی، شدت نور و سطح نیتروژن در دوره رشد قرار می‌گیرد و در نتیجه همواره رابطه ثابت و پایداری بین این دو صفت مشاهده نمی‌شود.



شکل ۲- گروه‌بندی اکوتیپ‌های یونجه و بررسی پراکنش آنها براساس روش پیوستگی بین گروه‌ها

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که رابطه معکوس میان DMD با CF و ADF در علوفه وجود دارد؛ به طوری که با فیبری شدن گیاه، DMD و در نتیجه کیفیت آن کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه فیبر در نشخوارکنندگان قابلیت هضم کمتری دارد، انتظار می‌رود که زیاد شدن CF منجر به کاهش قابلیت هضم علوفه گردد (باقری‌راد و همکاران، ۱۳۸٦). همچنین فونسکا و همکاران (۱۹۹۹a) و ایمانی و همکاران (۱۳۸۷) همبستگی بین DMD و ADF را منفی و معنی‌دار گزارش کردند.

CP همبستگی منفی و معنی‌داری با CF (۰/٦۰-) و ADF (۰/۵۲-) داشت که مطابق با نتایج تحقیقات گذشته در این خصوص بود. فونسکا و همکاران (۱۹۹۹a) و ایمانی و همکاران (۱۳۷۸) همبستگی میان CP و ADF را منفی و معنی‌دار گزارش کردند. با کامل‌تر شدن دوره رشد گیاه به مقدار بافت‌های استحکام‌بخش و نگهدارنده که بیشتر از کربوهیدرات‌های ساختاری (سلولز، همی‌سلولز و لیگنین) می‌باشند اضافه می‌شود، در حالی که غلظت پروتئین کاهش می‌یابد (Hall *et al*., 2000؛ باقری‌راد و همکاران، ۱۳۸٦) بنابراین هرچه میزان فیبر بالاتر رود از میزان پروتئین علوفه کاسته می‌گردد. میزان پروتئین و فیبر در علوفه از صفات مهم کیفی و همواره مورد توجه محققان بوده و اهمیت این مسئله با تأثیر این عوامل در میزان انرژی متابولیسمی علوفه، قابل تصوراست، به طوری که در چین‌های مختلف و در کشت‌های پاییزه و بهاره نیز به اثبات رسیده است (Christian, 1977., Coors *et al*., 1986., Griffin, 1994). میزان کم پروتئین خام و میزان زیاد فیبر در گونه‌های علوفه‌ای در دوره بهاره در مقایسه با پاییز و زمستان منجر به کاهش ME می‌شود. جذب انرژی یکی از محدودیت‌های اولیه در تولید شیر گاوهای شیری می‌باشد (Fulkerson *et al*., 2008).

همبستگی بین CP و WSC نیز همانند DMD و CP پایدار نبوده و عوامل متعددی موجب تغییر آن می‌گردد. تجزیه داده‌ها عدم همبستگی بین CP و WSC را نشان داد که در تناقض با نتایج جعفری و ناصری (۲۰۰۷) بود. این محققان، همبستگی منفی و معنی‌دار بین این صفات را نشان دادند و تشخیص دادند که ارتباط بین این صفات تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی بوده و انتخاب جهت افزایش این دو صفت امکان‌پذیر نمی‌باشد. جذب بیشتر ازت توسط گیاه باعث افزایش رشد گیاه و افزایش پروتئین خام و کاهش قند می‌گردد. کاربرد کودهای نیتروژنه میزان CP را با تحریک همزمان رشد، افزایش می‌دهد (Humphereys, 1989). در ضمن Minson (۱۹۹۰) نشان داد که میزان CP در اثر افزایش میزان برگ علوفه، در تابستان کمتر و در پاییز بیشتر است. میزان CP با افزایش سن علوفه کاهش می‌یابد (Fulkerson *et al*., 1998). بدین ترتیب در ارزیابی کیفی علوفه ژنوتیپ‌های مختلف یونجه، باید به این مسئله توجه کرد که اختلافات کیفی، بیشتر در چین‌های اولیه قابل تشخیص بوده و با افزایش دوره رشد گیاه تفاوت بین ژنوتیپ‌ها معنی‌دار نخواهد بود (Hall *et al*., 2000).

CF دارای همبستگی مثبت و معنی‌داری با ADF (۰/۳۷) بود. CF بیانگر کل فیبر گیاه و ADF بیانگر فیبر کل بدون همی‌سلولز می‌باشد. بنابراین هرچه CF بالاتر باشد میزان ADF نیز بالاتر خواهد بود. میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارشی که همی سلولز را به‌عنوان یک سوبسترا ترجیح می‌دهند ممکن است

حساسیت بیشتری به اثرات منفی pH پایین سیستم گوارشی در مقایسه با آنهایی که سلولز را ترجیح می‌دهند، داشته باشند (Wedekind, 1986). بنابراین این مسئله بیان می‌کند که مواد مکمل غذایی خوراک دام، هنگامی که دارای میزان همی‌سلولز بیشتری باشد، اثرات مضری در قابلیت هضم علوفه دارد. در این رابطه، گیاهان علوفه‌ای زمستانه (مثل یولاف، گندم و تریتیکاله) میزان همی‌سلولز کمتری نسبت به محصولات دانه‌ای بهاره دارند و علوفه بهاره با داشتن همی‌سلولز بیشتر در مقایسه با نوع پاییزه خود، اثرات منفی بیشتری در قابلیت هضم این محصولات دارند (Fulkerson *et al*., 2008). میزان CP در یولاف، تریتیکاله و گندم در بهار کمترین مقدار را دارد در حالی که بیشترین مقدار آن در اثر افزایش مقدار برگ، در علوفه پاییزه می‌باشد (Minson, 1990). تغییر فصلی در میزان CP ممکن است در اثر اختلاف در شدت نور باشد و بیانگر این مسئله است که میزان CP در شدت نور بالا کاهش می‌یابد (Alberda, 1965., Bathurst & Mitchel, 1958). بنابراین برداشت زودتر علوفه موجب بالا بودن CP در علوفه است. به عبارت دیگر، با افزایش عملکرد علوفه (که شاید مرتبط با برداشت دیرتر آن باشد) میزان CP کاهش می‌یابد.

همچنین همبستگی مثبت و غیر معنی‌داری بین DMD و WSC مشاهده گردید. قندهای محلول در آب به‌طور کامل قابل هضم بوده و با افزایش غلظت آن در گیاه انتظار می‌رود که قابلیت هضم گیاه افزایش یابد. نتایج این تحقیق در توافق با نتایج هامفریس (۱۹۸۹) و جعفری و همکاران (۲۰۰۳a) در لولیوم (Ryegrass) دائمی است. همبستگی منفی و معنی‌دار بین میزان فیبر خام گیاه و تعداد روز پس از اولین برداشت تا ۱۰ درصد گلدهی نشان می‌دهد که با پیشرفت مراحل رشد گیاه و وارد شدن از دوره رویشی به زایشی به میزان فیبر گیاه افزوده شده و کیفیت آن کاهش می‌یابد. بنابراین هرچه دوره رشد رویشی و زمان رسیدن به ۱۰ درصد گلدهی بیشتر باشد، گیاه میزان فیبر کمتری خواهد داشت. بلوغ یونجه نقش مهمی را در کیفیت یونجه بازی می‌کند و رابطه معکوس بین پیشرفت مراحل رشدی یونجه و کیفیت علوفه به خوبی اثبات شده است (Hintz & Albrecht, 1991., Sanderson, 1992). از طرفی دلیل عمده این کاهش کیفیت علوفه، کاهش شدید کیفیت ساقه است در حالی که تغییرات کوچکی در کیفیت برگ اتفاق می‌افتد (Buxton & Hornestein 1986., Albrecht *et al*., 1987). کاهش کیفیت مرتبط با بلوغ گیاه به‌شدت تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد، به طوری که کاهش کیفیت در تابستان بسیار بیشتر از پاییز است و این مسئله به افزایش بافت‌های نگهدارنده و میزان لیگنین گیاه با افزایش دما، بستگی دارد (Kalu & Fick 1983., Griffin *et al*., 1994). باقری‌راد و همکاران (۱۳۸٦) در بررسی کیفیت علوفه سه گونه علف گندمی *Aeluropus lagopoides*، *Aeluropus littoralis* و *Puccinellia distans* در دو مرحله رشد رویشی و بذردهی بیان کردند که مرحله رشد مهمترین عامل مؤثر بر ترکیب و ارزش غذایی علوفه مراتع می‌باشد. با توجه به این که گیاهان جوان از سلول‌های جوان تشکیل شده‌اند، دارای دیواره سلولی نازک و ظریف می‌باشند و درنتیجه، در مراحل رویشی و ابتدایی رشد مقدار لیگنین، ADF، CF و سلولز کم است ولی همزمان با افزایش سن گیاه دیواره سلولی ضخیم‌تر و خشن‌تر می‌شود و بر میزان CF و لیگنین افزوده می‌گردد (عرفان‌زاده و ارزانی، ۱۳۸۲).

همبستگی منفی و معنی‌دار میان ارتفاع بوته و روز پس از برداشت تا ۱۰ درصد گلدهی نشان داد که اکوتیپ‌هایی که

ارتفاع بوته و در نتیجه رشد رویشی کمتری دارند، زودتر به گلدهی می‌رسند. همبستگی مثبت میان روز پس از اولین برداشت تا ۱۰ درصد گلدهی و نسبت وزن خشک برگ به ساقه نشان داد که هرچه گیاهان دیرتر وارد دوره زایشی شوند و دوره رشد رویشی طولانی‌تری داشته باشند نسبت برگ به ساقه (که یکی از شاخص‌های مهم کیفیت یونجه است) بیشتر خواهد بود. نتایج نشان داد که تغییرات زیادی در صفات DMD، CF، ADF، CP و WSC وجود دارد که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی در جهت تسریع پیشرفت ژنتیکی و انتخاب گیاهان مورد استفاده قرار گیرد ولی به علت همبستگی‌های منفی برخی از این عوامل کیفی، ممکن است که انتخاب همزمان آنها در جهت ترکیب این صفات در یک ژنوتیپ وجود نداشته باشد.

رابطه خاکستر با شاخص‌های کیفی

نتایج نشان داد که دو شاخص CF و WSC، ۷۰/٦ درصد تغییرات در ASH را توجیه کردند که در آن، CF، ٦۳/۵ و WSC، ۷ درصد تغییرات را دربرداشت. با توجه به این که این دو شاخص نشان‌دهنده کربوهیدرات‌ها در گیاه می‌باشد پیش بینی می‌شود که کربوهیدرات‌ها مهمترین عامل در تعیین مقدار خاکستر کل علوفه بوده و با افزایش میزان کربوهیدرات‌ها، میزان خاکستر کل نیز بالاتر خواهد بود.

پراکنش اکوتیپ‌های یونجه

گروه پنجم بیشترین فاصله را از بقیه گروه‌ها داشت (جدول ٤). استان‌های ذکر شده در گروه پنجم استان‌های مرزی می‌باشند و از آنجایی که مبدأ یونجه نیز عمدتا شمال غرب ایران، شرق ترکیه و شمال عراق ذکر شده است (Michaud *et al*., 1988)، احتمال می‌رود که منشأ یونجه‌های غرب کشور با بقیه استان‌ها متفاوت بوده و خصوصیات مورفولوژیک و کیفیتی متفاوتی داشته باشند. همچنین فاصله گروه دوم از سوم و چهارم می‌تواند بیانگر تفاوت کیفیت علوفه یونجه‌های کاشته شده در مناطق کوهستانی و سردسیر با یونجه‌های کاشته شده در مناطق کویری و گرمسیر ایران باشد. فاصله کم گروه اول و چهارم نشان داد که اکوتیپ‌های مناطق اصفهان و چهار محال و بختیاری از لحاظ کیفیت علوفه به اکوتیپ‌های کرمان، سیستان و بلوچستان و یزد نزدیکتر می‌باشند. این نتیجه با نتایج بدست‌آمده از داده‌های بررسی تنوع ژنتیکی در این گونه مطابقت دارد (رضایی، ۱۳۸۸). در مطالعه تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مشاهده شد که شاخص‌های ساختار جمعیتی اکوتیپ‌های مرکز و شرق ایران یکسان می‌باشند (رضایی، ۱۳۸۸).

تعیین اولویت صفات در برنامه اصلاحی

مؤلفه‌های چهارگانه در مجموع، ۸۲/٥٦ درصد از اختلاف داده‌ها را توجیه کردند که مؤلفه اول ۳٤/۳۳ درصد از واریانس کل را توجیه نمود و با توجه به متغیرهایی که از آن تأثیر می‌پذیرفتند می‌توان گفت که DMD، CP، ADF و ME مهمترین عوامل تعیین‌کننده کیفیت علوفه می‌باشند. توجه به این صفات می‌تواند در برنامه‌های اصلاح کیفی گیاهان علوفه‌ای ازجمله یونجه مورد توجه قرار گیرد. نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌دار بین DMD و CP و همبستگی منفی و معنی‌دار بین DMD و CP با ADF وCF وجود دارد. بنابراین در برنامه‌های اصلاحی انتخاب در جهت DMD و CP بالا و فیبر پایین، امکان‌پذیر

می‌باشد. در تحقیق بر روی چند گونه بروموس May (۱۹۹۸)، شاخص‌های تعیین کیفیت علوفه را CP، DMD و ADF دانسته است. در ضمن Khalil و همکاران (۱۹۸٦)، Rhodes و Sharrow (۱۹۹۰) هضم‌پذیری ماده خشک (DMD) را شاخص تعیین کیفیت علوفه در نظر گرفتند. به همین ترتیب Wheeler و Corbett (۱۹۸۹) بیان نمودند که در اصلاح کیفیت علوفه افزایش درصد DMD، WSC، CP و کاهش درصد فیبر گیاه از اهمیت خاصی برخوردار هستند و بیشترین تأثیر را در افزایش فرآورده‌های گوشتی و لبنی دارند. محققان دیگری نظیر Larry و White (۱۹۸٤) و Schake (۱۹۷۷) در تعیین کیفیت علوفه شاخص‌های گوناگونی از قبیل مجموع مواد مغذی قابل هضم (TDN)، پروتئین خام (CP) و انرژی متابولیسمی (ME) را به کار بردند. از انرژی متابولیسمی (ME) محققان دیگری نظیر Stodart و همکاران (۱۹۷۵) نیز به طور وسیع در ارزیابی کیفیت علوفه گیاهان مرتعی استفاده کردند.

نمودار دو بعدی براساس دو مؤلفه اول (شکل ۱) نشان داد که تنوع بالایی از نظر شاخص‌های کیفیت علوفه در نمونه‌های مورد مطالعه و حتی نمونه‌های جمع‌آوری شده از یک استان وجود دارد که می‌توان از این تنوع در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود کیفیت علوفه یونجه استفاده نمود. نتایج بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های یونجه به وسیله نشانگرهای ریزماهواره نشان داد که دندروگرام ترسیم شده با مناطق جغرافیایی همپوشانی نداشته و تنوع بسیار زیادی میان اکوتیپ‌های جمع‌آوری شده از یک استان و افراد هر اکوتیپ وجود دارد (رضایی، ۱۳۸۸). این نتایج همسو با نتایج تحقیق حاضر بوده و بیانگر ظرفیت بالا در انتخاب والدین مناسب در برنامه‌های اصلاحی و استفاده از بنیه‌ی هتروزیس است. همچنین نمودار نشان می‌دهد اکوتیپ‌هایی که در ناحیه سه و چهار قرار دارند از لحاظ صفات شاخص در مؤلفه اول در وضعیت مطلوبی قرار داشته و استفاده از آنها در برنامه‌های اصلاحی، اولویت دارد.

گروه‌بندی نمونه‌ها از لحاظ صفات کیفی

نتایج حاصل از دندروگرام نشان داد که پراکندگی فراوانی از لحاظ شاخص‌های کیفیت علوفه در اکوتیپ‌های مورد مطالعه وجود دارد که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی (فلاحتی و همکاران، ۱۳۸٤؛ بوشهری و همکاران، ۱۳۸۷؛ رضایی، ۱۳۸۸) مطابقت داشت. تنوع مشاهده شده در اکوتیپ‌های یونجه می‌تواند ناشی از دگرگشن بودن گیاه یونجه و اختلاط بذرهای یونجه‌های مناطق مختلف طی سال‌ها کشت مداوم یونجه در ایران باشد.

در کل، نتایج نشان داد که تنوع مناسبی بین اکوتیپ‌های یونجه زراعی کشور از لحاظ شاخص‌های تعیین‌کننده‌ی کیفیت علوفه وجود دارد و می‌توان از آن در برنامه‌های اصلاحی جهت انتخاب والدین مناسب و بهره‌برداری از بنیه‌ی هتروزیس استفاده نمود. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و نمودار حاصل از دو مؤلفه اول نشان داد در ایجاد و توسعه‌ی ارقام اصلاحی، استفاده از توده‌های یونجه موجود در مناطق سه و چهار نمودار که از لحاظ صفات شاخص در مؤلفه اول در وضعیت مطلوبی قرار دارند، اولویت دارد. نتایج همبستگی‌های بین صفات نشان داد که در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب والدین برتر، انتخاب جهت یونجه‌های با DMD و CP بالا و میزان فیبر پایین امکان‌پذیر بوده و می‌توان از این

همبستگی‌ها جهت حداکثر نمودن سرعت پیشرفت ژنتیکی و انتخاب والدین برتر استفاده نمود. پیشنهاد می‌شود به منظور بررسی تأثیر عوامل محیطی بر شاخص‌های کیفیت علوفه و درک سازوکارهای کنترل کیفی علوفه و جهت کاراتر شدن فرایند انتخاب، این یونجه‌ها تحت تنش‌های مختلف محیطی کشت و مطالعه شوند.

منابع مورد استفاده

- ایمانی، ا.ا.، جعفری، ع.ا.، چوکان، ر.، اصغری، ع و فرح بخش، ف.، ۱۳۸۷. بررسی کمی و کیفی علوفه در ۳۶ جمعیت از گونه *Festuca arundincea Schreb.* به منظور بررسی ارقام مناسب برای اصلاح مراتع و تولید علوفه در چراگاه‌های مناطق سردسیری استان اردبیل. تحقیقات مرتع و بیابان ایران. ۱۵: ۴۹۳-۵۰۷.
- باقری‌راد، ا.، دیانکی تیلکی، ق.، مصداقی، م.، امیرخانی، م.، ۱۳۸۶. بررسی کیفیت علوفه‌ی سه گونه علف گندمی *Puccinellia distans* و *Aeluropus lagopoides* و *A. littoralis* در منطقه شور و قلیایی اینچه برون. پژوهش و سازندگی. ۷۶: ۱۵۷-۱۶۳.
- بوشهری، ع.ا.ش.، فتاحی، ح.ع. و یزدی صمدی، ب.، ۱۳۸۷. بررسی تنوع ژنتیکی ارقام و توده‌های یونجه‌های (*Medicago sativa L.*) تحت کشت در ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD. ژنتیک نوین. ۳: ۳۵-۴۴.
- جعفری، ع.، ۱۳۸۰. تعیین فاصله ژنتیکی ۲۹ ژنوتیپ چچم دائمی (*Lolium perenne*) از طریق تجزیه کلاستر براساس عملکرد علوفه و صفات مورفولوژیکی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۶: ۹۷-۹۱.
- رضایی، م.، ۱۳۸۸. بررسی تنوع ژنتیکی و کیفیت علوفه در یونجه‌های زراعی مناطق مرکز و شرق ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران.
- عرفان‌زاده، ر.، ارزانی، ح.، ۱۳۸۲. بررسی تأثیر مراحل فنولوژی و خصوصیات خاک بر کیفیت علوفه دو گونه مرتعی *Trifolium pretense* و *Coronilla varia*. پژوهش و سازندگی. ۱۶، ۱: ۲-۴.
- فرشادفر، م.، فارغی، ش.، فرشادفر، ع.، جعفری، ع.ا.، ۱۳۸۷. ارزیابی تنوع ژنتیکی یونجه (*Medicago sativa* L.) با استفاده از شاخص‌های ریخت شناسی و شیمیایی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۶، ۱: ۱-۱۳.
- فلاحتی، ع .، حبشی ع.ا .، اصفهانی، م .، محمدی، س.ا و قره یاضی، ب.، ۱۳۸۴. ارزیابی ساختار و تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی یونجه‌های زراعی ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. علوم کشاورزی ایران. ۳۶، ۴: ۹۸۹-۹۷۹.
- مظفری، ج.، و عباسی، م.ر.، ۱۳۸۴. ذخایر توارثی گیاهان علوفه‌ای در بانک ژن گیاه ملی ایران. چکیده مقالات اولین همایش گیاهان علوفه‌ای کشور، دانشگاه تهران. ص ۳-۳۰.
- Alberda, Th., 1965. The influence of temperature, light intensity and nitrate concentration on dry-matter production and chemical composition of *Lolium perenne L*. Neth. J. Agricultural Science, 13: 335-360.
- Albrecht. K.A., Wedin, W.F. and Buxton, D.R., 1987. Cell-wall composition and digestibility of alfalfa stems and leaves. Crop Science, 27:735-741.
- Bathurst, N.O.H. and Mitchell, K.J., 1958. The effect of light, temperature on the chemical composition of pasture plants. New Zealand. J. Agricultural Research, 1: 540-552.
- Buxton, D.R. and Hornstein, J.S., 1986. Cell-wall concentration and components in stratified canopies of alfalfa, birdsfoot trefoil and red cover. Crop Science, 26: 180-184.
- Christian, K.R., 1977. Effects of the environment on the growth of alfalfa. Adv. Agron. 29:183-227.
- Coors, J.G., Lowe, C.C. and Myrphy, R.P., 1986. Selection for improved nutritional quality of alfalfa forage. Crop Science, 26: 843-848.
- Fonseca, C.E.L., Viands, D.R., Hansen, J.L. and Pell, A.N., 1999a. Associations among forage quality traits, vigor and disease resistance in alfalfa. Crop Science, 39: 1271-1276.
- Fonseca, C.E.L., Hansen, J.L., Thomas, E.M., Pell, A.N. and Viands, D.R., 1999b. Near Infrared Reflectance Spectroscopy prediction and heritability of neutral Detergent-Soluble Fiber in alfalfa. Crop Science, 39: 1265-1270.
- Frandsen, K.J., 1986. Variability and inheritance of digestibility in perennial rye grass (*Lulium perenne*), meadow fescue (*Festuca pratensis*) and cocksfoot (*Dactylis glomerata*). II. F1 and F2 progeny. Acta Agriculturae Scandinavica, 36: 241-263.
- Fulkerson, W.J., Slack, K., Hennessy, D.W., Hough, G.M., 1998. Nutrients in ryegrass (*Lolium* spp), white clover (*Trifolium repense*) and kikuyu

- Larry, M. and White, R., 1984. Forage yield and quality of dry land grasses and legumes. Journal of Range Management, 37 : 233-236.
- Lenssen, A.W., Sorensen, E.L. and Posler, G.L., 1990. Forage quality of genetically divers alfalfa germplasms at four phenological growth stages. Euphytica, 51: 53-57.
- Marum, P., Hovin, A.W., Marten, G.C. and Shenk, J.S., 1979. Genetic variability for cell wall constituents and associated quality traits in reed canarygrass. Crop Science, 19: 355-360.
- May, K.W., 1998. Growth and forage quality of three *Bromus* species native to western Canada. Plant Science, 78: 597-603.
- Michaud, R., Lehman, W.F. and Runbaugh, M.D., 1988. World distribution and historical development. In: A.A. Hanson, D.K. Barnes, and R.R. Hill (eds), Alfalfa and Alfalfa Improvement, Monogr. 29. Society of Agronomy., Madison.
- Minson, D.J., 1990. Forage in Ruminant Nutrition. Academic Press. Sydney, 483 p.
- Radojevic, I., Simpson, R.J., John, J.A., and Humphreys, M. O., 1994. Chemical composition and in vitro digestibility of lines of *Lolium perenne* selected for high concentrations of water soluble carbohydrate. Australian Journal of Agricultural Research, 45: 901–912.
- Rhodes, B.D and Sharrow, S.H., 1990. Effect of grazing by sheep on the quality of forage available to big game in Oregon coast. Range Management, 43:235-237.
- Sanderson, M.A., 1992. Predictors of alfalfa forage quality: Validation with field data. Crop Science, 32: 245-250.
- Sauer, J.D., 1993. Historical Geography of Crop Plants-A Select Roster. CRC Press, Boca Raton, Florida, 324 p.
- Schake, L.M., Pinkerton, B.W., Donnell, C.E., Riggs, J.K. and Lichtenwalner, R.E., 1977. Utilization of cattle excrement for growth and maintenance of beef cattle. Journal of Animal Science, 45: 166-179.
- Stodart, L.A., Cook, C.V. and Harris, L.E., 1975. Determining the digestibility and metabolically energy of winter range plant by sheep. Journal of Animal Science, 11: 578-590.
- Wedekind, K.J., Muntiferring, R.B. and Barker, K.B., 1986. Effects of diet concentrate level and sodium bicarbonate on site and extent of forage digestion in the gastrointestinal tract of wethers. Journal of Animal Science, 62:1388-1395.
- Wheeler, J.L. and Corbett, J.L., 1989. Criteria for breeding forages of improved feeding value: Results of a Delphi survey. Grass and Forage Science, 44: 77- 83.

(*Pennisetum clandestinum*) pastures in relation to season and stage of re-growth in a subtropical environment. Australian Journal of Experimental Agriculture, 38:227-240.

- Fulkerson, W.J., Horadagoda, A., Neal, J.S., Barchia, I. and Nandra, K.S., 2008. Nutritive value of forage species grown in the warm temperate climate of Australia for dairy cows. Herbs and Grain Crops Livestock Science, 114: 75-83.
- Griffin, T.S., Cassida, K.A., Hesterman, O.B. and Rust, S.R., 1994. Alfalfa maturity and cultivar effects on chemical and in situ estimates of protein digestibility. Crop Science, 34: 1654-1661.
- Hall, M.H., Smiles, W.S. and Dickerson, R.A., 2000. Morphological development of alfalfa cultivars selected for higher quality. Agronomy Journal, 92: 1077-1080.
- Hintz, R.W. and Albrecht, K.A., 1991. Prediction of alfalfa chemical composition from maturity and plant morphology. Crop Science, 31: 1561-1565.
- Humphereys, M.O., 1989. Water soluble carbohydrates in perennial. II. Cultivar and hybrid progeny performance in cut plot. Grass and Forage Science, 44: 237-244.
- Huset, D.E., Schnebbe, D.A., Kugler, J.L. and Peterson, M.A., 1991. Registration of WL322 HQ alfalfa. Crop Science, 31: 1699-1700.
- Jafari, A., Connolly, V. and Walsh, E.K., 2003a. Genetic analysis of yield and quality in full sib families of perennial ryegrass (*Lolium perenne L.*) under two cutting managements. Irish Journal of Agricultural and Food Research, 42: 275- 292.
- Jafari, A., Connolly, V. and Walsh, E.K., 2003b. A note on estimation of quality in perennial ryegrass by Near Infrared Spectroscopy. Irish Journal of Agricultural and Food Research, 42: 293-299.
- Jafari, A., and Naseri, H., 2007. Genetic variation and correlation among yield and quality traits in cocksfoot (*Dactylis glomerata L.*). Journal of Agricultural Science, 145: 599–610.
- Julier, B. and Huyghe, C., 1997. Effect of growth and cultivar on alfalfa digestibility in a multi-site trial. Agronomie, 17: 481-489.
- Julier, B., Huyghe, C. and Ecalle, C., 2000. Within and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology, and yield. Crop Science, 40: 365-369.
- Kalu, B.A. and Fick, G.W., 1983. Morphological stage of development as a predictor of alfalfa herbage quality. Crop Science, 23: 1167-1172.
- Khalil, J.K., Saxay, W.N. and Heyder, S.Z., 1986. Nutrient composition of Atriplex Leaves growing in Saudi Arabia .Journal of Range Management, 30:204-217.

Evaluation of diversity in Iranian ecotypes of alfalfa using forage quality components

M. Rezaei[*1], M.R. Naghavi[2], R. Maali Amiri[3], R. Mohammadi[4], A.A. Jafari[5] and M.M. Kaboli[6]

1[*]- Corresponding author, M.Sc., Agriculture and Natural Resources Campus, University of Tehran, I.R.Iran
E-Mail: rezaei.ut@gmail.com
2- Prof., Agriculture and Natural Resources Campus, University of Tehran, I.R.Iran
3- Assis. Prof., Agriculture and Natural Resources Campus, University of Tehran, I.R.Iran
4- M.Sc, Agriculture and Natural Resources Campus, University of Tehran, I.R.Iran
5- Assoc. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran
6- Assis. Prof., Forage Department, Ministry of Jehad-Agriculture, Tehran, I.R.Iran

Received: 14.12.2009 Accepted: 12.09.2010

Abstract

Forage quality components of 47 alfalfa ecotypes were studied using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). Results of correlation coefficient among the studied traits showed that dry matter digestibility (DMD) had a positive significant correlation with crude protein (CP) (0.67), and a negative significant one with crude fiber (CF) (-0.51) and acid detergent fiber (ADF) (-0.96). However, correlation between CP and CF (-0.60) and ADF (-0.52) was significantly negative, A positive significant correlation was estimated between CF and ADF (0.37). Result of regression analysis showed that CF and WSC justified 63.5% and 7% of the total variation in ash content, respectively. Hence carbohydrates are the most important variables in determination of total ash content. For evaluating of Mahalanobis distance, the ecotypes were classified into five groups according to their geographical locations and the results illustrated a high distance between the western ecotypes and the others. However, a similarity between the central ecotypes (Esfahan and Chaharmahalo Bakhtiari) and the eastern one (Khorasan, Golestan and Semnan) was clarified. By principal components analysis, DMD, CP, ADF and metabolism energy (ME) were introduced as the most important indicators in forage quality. A Depicted Bi-Plot based on PC_1 and PC_2, elucidated a high dispersal and diversity among ecotypes and indicated the appropriate ecotypes for utilizing in breeding programs. Cluster analysis using Between-Group Linkage method was performed and depicted dendrogram illustrated a high diversity in forage quality components in ecotypes even those collected from one province. As a whole, the results showed that there is a high potential for selection of desirable parents and usage of heterosis in breeding programs. The results of correlation between the traits could be used for the selection of plants with good quality traits.

Key words: *Medicago sativa*, Forage quality, Genetic Diversity.