E-ISSN: 2538-2187 | P-ISSN: 2251-7901

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology

https://jab.alzahra.ac.ir/

Vol. 36, No. 4 (2024) 1-9.

Paper Type: Original Article

Classification Tolerance some of Alfalfa Genotypes (*Medicago sativa* L.) to alfalfa Weevil (*Hypera postica* Gyll.)

Sahar Bakhtiarian[1], Mehdi Kakaei[2], Hojatolah Mazaheri Laghab[3,*]

[1] *Master's student in Plant Breeding, Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University.*
[2] *Associate Professor of Plant Breeding, Department of Agricultural Sciences, Faculty of Technical Engineering, Payam-Noor University, Tehran-Iran;*
[3] *Associate Professor of Plant Breeding, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Bu-Ali-Sina University, Hamadan-Iran; Hojat.mazahery@yahoo.co.uk.*

Citation:

Mazaheri Laghab, H., Kakaii, M., & Bakhtiarian, S. (2024). Classification Tolerance some of Alfalfa Genotypes (*Medicago sativa* L.) to alfalfa Weevil (*Hypera postica* Gyll.). *The quarterly scientific journal of applied biology, 36*(4), 1-9.

Received: 24/02/2023 Accepted: 12/06/2023

Abstract

Introduction: Cultivated alfalfa, which is known as green gold, is one of the most suitable fodder plants known in the world. Leaf weevil pest of alfalfa is considered one of the limiting stresses in alfalfa production in conditions of Iran. The use of tolerant cultivars is a safe and beneficial way to control the leaf weevil pest in alfalfa.

Methods: To group pest resistance in alfalfa, different traits of 30 genotypes.

Results: The interaction between the varieties and the levels of pest attack showed significant differences in relation to weevil number, fresh forage yield, dry forage yield, plant height at the time of harvesting at 1%, and the amount of damage at 5% probability. The number of larva had a significant positive correlation at a level of 5% with damage amounts. Analysis of the correlation between the mean of the data in the first cutting showed a correlation between damage amount and leaf chlorophyll extent with the number of larva at a level of 5% probability. In stepwise regression, damage percent was used as a dependent variable, and other traits were used as independent variables. The results showed that larvae's number, leaf chlorophyll extent, and plant height, with a 30/01 cumulative coefficient, explained the most variations in damage percentage.

Conclusion: Considering the percent of damage and the average comparison for other traits, Yazdi 35 and Maoopa 102 with the least number of larvae and the least percent of damage, respectively, and the highest height in attack or damage time as the most tolerance and cultivars Tak Buteh 92 and Mahalie Miandoab with the most larval number, damage percent and the lowest plant height were recognized as the most susceptible cultivars towards alfalfa weevil attack at damage time too.

Keywords: Alfalfa, Correlation, Genetic Diversity, Germplasm, Hypera postica, Tolerance.

Corresponding Author: Hojat.mazahery@yahoo.co.uk

فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا (س)
دوره ۳۶، شماره (۴)، (۱۴۰۲)، ۹-۱
https://jab.alzahra.ac.ir

نوع مقاله: پژوهشی

گروه‌بندی مقاومت ژرم‌پلاسم برخی جمعیت‌های یونجه (*Medicago sativa L.*) نسبت به حمله سرخرطومی برگ (*Hypera postica Gyll.*)

سحر بختیاریان[۱]، مهدی کاکایی[۲]، حجت‌اله مظاهری‌لقب[۳،*]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح‌نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا.
[۲]دانشیار اصلاح نباتات،گروه علوم کشاورزی، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران.
[۳] دانشیار اصلاح نباتات، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران.
نویسنده مسئول: ***Hojat.mazahery@yahoo.co.uk***

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۲

چکیده

مقدمه: یونجه زراعی به طلای سبز معروف است یکی از مناسب‌ترین گیاهان علوفه‌ای شناخته‌شده در جهان است. آفت سرخرطومی برگ یونجه ازجمله تنش‌های محدودکننده در تولید یونجه در شرایط ایران به‌حساب می‌آید. استفاده از ارقام مقاوم، روشی مطمئن و سودمند برای کنترل آفت سرخرطومی برگ در یونجه است.

روش‌ها: به‌منظور گروه‌بندی تحمل به آفت در یونجه‌های زراعی، صفات ۳۰ ژنوتیپ یونجه موجود در ژرم‌پلاسم در مزرعه آموزشی دانشگاه بوعلی‌سینا مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: اثر ارقام و سطوح حمله آفات در ارتباط با صفات تعداد لارو، عملکرد علوفه تر، عملکرد علوفه خشک، ارتفاع زمان برداشت در سطح احتمال ۱% (P≤%1) و صفت میزان خسارت در سطح احتمال ۵% (P≤%5) اختلاف معنی‌دار نشان دادند. صفت تعداد لارو با میزان خسارت در سطح احتمال ۵% (P≤%5) همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت. در رگرسیون گام به گام، عملکرد علوفه خشک به عنوان متغیر تابع و سایر صفات به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند. نتیجه نشان داد که عملکرد علوفه تر، درصد ماده خشک، درصد خسارت و میزان کلروفیل با ضریب تبیین تجمعی ۹۰/۲۶ بیش‌ترین تغییرات درصد خسارت را توجیه نمود.

نتیجه‌گیری: با توجه به متغیر عملکرد علوفه خشک و مقایسه میانگین سایر صفات، ارقام یزدی ۳۵ و مائوپا ۱۰۲ به ترتیب با داشتن کم‌ترین تعداد لارو و کم‌ترین درصد خسارت و همچنین بالاترین ارتفاع زمان خسارت، متحمل‌ترین ارقام شناسایی شدند و ارقام تک بوته ۹۲ و محلی میاندوآب با داشتن بالاترین تعداد لارو، درصد خسارت و همچنین کم‌ترین ارتفاع زمان خسارت به عنوان حساس‌ترین ارقام نسبت به حمله سرخرطومی شناخته شدند.

کلیدواژه‌ها: تحمل، تنوع‌ژنتیکی، سرخرطومی، ژرم‌پلاسم، همبستگی، یونجه.

۱- مقدمه

تامین مواد غذایی مورد نیاز در داخل کشور از اهداف مهم کارگزاران بخش کشاورزی است. برای تامین پروتئین حیوانی، تولید گیاهان علوفه‌ای از اهمیت خاصی برخوردار بوده و لزوم دسترسی به این محصولات تحقیقات گسترده‌ای را ایجاب می‌کند.

یونجه (*Medicago sativa* L., 2n=4x=32) جزو مهم‌ترین گیاهان از خانواده Fabaceae، گیاهی چند ساله، دارای علوفه‌ای با منبع غذایی و کیفیت تغذیه‌ای و عملکرد علوفه‌ای بالا، تحمل به تنش‌های زراعی و تثبیت ازت بسیار حائز اهمیت بوده و از جمله مهم‌ترین نباتات علوفه‌ای در ایران و جهان قابلیت کشت دارد [1]. با توجه به دگرگشنی و تتراپلوئیدی بودن این گیاه، انتظار می‌رود که تنوع‌ژنتیکی زیادی در داخل جمعیت‌های یونجه وجود داشته باشد [2–6]. به علت نقش زیاد علوفه در تغذیه‌ی غیرمستقیم انسان‌ها، تحقیقات در زمینه‌های مختلف اصلاحی یونجه، گسترش

فوق‌العاده‌ای داشته است [7]. این گیاه با توجه به داشتن ترکیبات بیوشیمیایی مثل ساپونین‌ها، اسیدآمینه‌های سمی و فنل‌ها می‌تواند مقاومت نسبی در برابر حمله آفات و بیماری‌ها داشته باشد [8]. خسارت آفت و بیماری‌ها به محصول یونجه در حدود ۳۰% برآورد گردیده است [9].

آفت سرخرطومی برگ یونجه (*Hypera postica* Gyll.)، نماتدها، قارچ‌ها و بعضی از باکتری‌ها از جمله مواد محدودکننده در تولید یونجه محسوب می‌شوند [9]. این آفت از طریق تغذیه شاخه و برگ گیاه، می‌تواند یونجه را به‌طورکلی نابود کرده و باعث محدودیت تولید علوفه یونجه گردد [10] و همچنین این آفات مزارع استان همدان را مورد حمله قرار می‌دهد [11]؛ بنابراین، برنامه‌های اصلاحی شناسایی ارقام متحمل به سرخرطومی برگ یونجه و استفاده از آن‌ها در ایران می‌تواند در جهت حفظ عملکرد گیاه یونجه مفید واقع گردد [12]. در پژوهشی مظاهری‌لقب و صمدی [13] با بررسی مقاومت ۷۷ رقم یونجه طی دو سال نسبت به خسارت آفت سرخرطومی برگ یونجه در شرایط تنش خشکی، تنوع قابل ملاحظه‌ای را در ارقام مختلف از لحاظ میزان مقاومت در زمان‌های مختلف، مشاهده کردند. جعفری و گودرزی [14] ایجاد تنوع ژنتیکی در اصلاح یونجه، برای شناسایی ارقام پرمحصول را گزارش کردند. در مطالعه‌ای مصطفوی و همکاران [15]، به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی یونجه زراعی در ۱۵۰ رقم یونجه چند ساله نتیجه گرفتند که صفات عملکرد علوفه تر و خشک، ارتفاع بوته و تعداد روز تا گل‌دهی بالاترین همبستگی را با عملکرد نشان دادند. نتایج تحقیق پورفرهاد و همکاران [16] جهت گروه‌بندی اکوتیپ‌های یونجه، حاکی از وجود اختلاف زیادی بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه آن‌ها از حیث صفات بود. در تحقیقی میرزایی [17] گزارش کرد که تنوع بسیار بالایی در یونجه‌های یک‌ساله و چندساله در بین و درون گونه‌های مختلف آن‌ها وجود دارد. هدف از این تحقیق، اقدام اولیه و پایه برای شناسایی ارقام متحمل به آفت سرخرطومی برگ در گیاه یونجه در شرایط همدان است.

۲- مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین عملکرد بر مقاومت یونجه نسبت به سرخرطومی، تعداد ۳۰ ژنوتیپ از یونجه‌های مختلف **جدول ۱** شامل یونجه‌های بومی (ایرانی) و غیر بومی (خارجی) از جمعیت‌های موجود در ژرم‌پلاسم مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان که از ٤ چین برخوردار بودند، در چین اول مورد بررسی قرار گرفتند. ژنوتیپ‌ها روی خطوط کشت ۲ متری با فاصله ۵۰ سانتی‌متر از هم کشت شدند. این پژوهش به‌صورت مزرعه‌ای، در زمینی به مساحت ۹۰۰ مترمربع در منطقه‌ی دستجرد همدان، با طول جغرافیایی ٤٨٥ و٢٨′ و عرض‌جغرافیایی٣٤٥ و٥٤′ با ارتفاع ۱۸۱۰ متر از سطح دریا، انجام شد. ژرم‌پلاسم موجود در قالب طرح کاملا تصادفی در مزرعه کشت شد. آبیاری به فواصل هر ۸ روز یک بار انجام گرفت. عملیات سم‌پاشی معمول در منطقه، صورت نپذیرفت. به دلیل طغیان آفت سرخرطومی برگ یونجه در هر سال، آلودگی در مزرعه به‌صورت طبیعی ایجاد شد. مجموعا، در مدت خسارت آفت، تعداد ۳ بار یادداشت‌برداری از وضعیت صدمه وارده به گیاه به عمل آمد. میزان خسارت از طریق نمره دادن از ۰ تا ۹ (صفر برای ۱ تا ۱۰% و ۹ برای ۹۱ تا ۱۰۰% خسارت) برحسب درصد خسارت وارده به شاخه و برگ و به عبارتی تاج پوشش کل کرت از گیاهان تعیین شد. به‌منظور کاهش خطا در زمان نمره‌دهی به خسارت وارده به تاج پوشش، ارزیابی توسط نمونه‌بردار در حالت پشت به جهت تابش آفتاب انجام شد. در مدت خسارت آفت، ارتفاع ژنوتیپ‌های مختلف در زمان خسارت به‌صورت اندازه‌گیری از بالای طوقه در ۵ سانتی‌متری از سطح خاک تا انتهای تاج پوشش، انجام گرفت. مقدار شاخص کلروفیل اسپد بوته‌هایی که ارتفاع آن‌ها اندازه‌گیری شد، توسط دستگاه اسپدمتر (کلروفیل‌سنج) اندازه‌گیری شد. برداشت جهت مطالعه صفات از یک متر وسط خط کاشت صورت پذیرفت. میزان عملکرد علوفه تر (گرم)، عملکرد علوفه‌خشک (گرم)، ارتفاع بوته در زمان برداشت (سانتی‌متر) و مقدار ماده خشک بر حسب درصد نیز محاسبه شد. مقایسات میانگین برای صفات مختلف با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵% انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای MINITAB، SAS و SPSS استفاده شد.

جدول ۱- عناوین محلی ۳۰ ژنوتیپ یونجه مورد مطالعه.

Table 1- Local names of 30 studied Alfalfa genotypes.

Number	Genotype	Number	Genotype	Number	Genotype
1	Baqdadi110	11	Shahre Rai 17	21	Poly Crass Bam 13
2	X131285	12	Baqdadi 4	22	Poly Cross Yaz 8
3	Renjer88	13	Emamzadeh Hamedan 34	23	Poly Cross Bam 14
4	Yazdi35	14	Hamedani 30	24	Bazre Afreqa
5	Masasersa90	15	Afqani 1	25	Kaleword321588
6	Tak boteh 14	16	Mezasersa 21	26	Deupoe
7	Tak Boteh 92	17	Hamedani 10	27	Mahali Meandoab
8	Ahar 3	18	Tak Boteh 51	28	Depuits
9	Tabrize 8	19	Maeopa 102	29	Ardabili
10	Zanjan 10	20	Maeopa 89	30	Asadabad 2

۳- بحث

نتایج تجزیه واریانس **جدول ۲** نشان داد که بین ارقام یونجه برای تمام صفات مورد بررسی به‌جز صفات میزان کلروفیل و ارتفاع زمان خسارت، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱% و ۵% وجود داشت. این تنوع در شرایطی وجود داشته که سرخرطومی در حال وارد ساختن خسارت به مزرعه و ژرم‌پلاسم بود. اثر سطوح حمله آفات بر ژنوتیپ‌ها در ارتباط با صفات تعداد لارو، عملکرد علوفه تر و خشک، ارتفاع زمان برداشت در سطح احتمال ۱% و میزان خسارت در سطح احتمال ۵% اختلاف معنی‌دار نشان داد. در پژوهشی زمانیان [18] اختلاف ارقام را از نظر عملکرد علوفه خشک در سطح احتمال ۱% معنی‌دار گزارش کرد و بیان داشت که شرایط اکولوژیکی بر عملکرد علوفه تر و خشک ارقام مختلف یونجه اثرگذار است که با نتایج این مطالعه منطبق است. در مطالعه‌ای مظاهری لقب [4] اعلام گردید که میانگین‌های خسارت وارده به ۷۷ رقم در تجزیه واریانس مرکب در سطح احتمال ۱% تفاوت داشتند. میزان سبزینه برگ و ارتفاع زمان خسارت نسبت به حمله آفت، اختلاف معنی‌داری نشان ندادند علت آن احتمالا این است که آفت ترجیح می‌دهد از گیاهانی که میزان سبزینه برگ بیش‌تر و ارتفاع کم‌تر دارند، استفاده کند. گودرزی و جعفری [14] در تحقیقی به مطالعه ارقام یونجه ابراز نمودند که صفت ارتفاع بوته با مقاومت به آفت سرخرطومی برگ یونجه رابطه معنی‌دار و مثبت داشته است.

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های چین اول و سطح معنی‌داری.

Table 2- Variance analysis of first order data and significance level.

Source of Variation	Mean od square	Error	Coefficient of variation
Degrees of Freedom	29	30	9.14
Number of Larvae	153.35**	10.47	11.96
Damage Percentage	151.43*	68.47	24.97
SPAD	11.46ns	13.29	13.29
Damage Time Height	23.96ns	16.04	9.87
Yield of Wet Fodder	82712.83**	4909.25	9.14
Yield of Dry Fodder	16005.66**	1550.69	12.51
Harvest Time Height	55.54**	8.05	5.16
Dry Matter Percentage	160.60**	6.64	6.12

**،* و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱%، ۵% و غیر معنی‌دار.

۳-۱- مقایسه میانگین

در مقایسه میانگین‌های صفات مختلف یونجه به روش دانکن **جدول ۳**، ارقام تک بوته ۹۲ و زنجان ۱۰ به ترتیب حداکثر و حداقل تعداد لارو را داشتند. ژنوتیپ‌های رنجر ۸۸ و یزدی ۳۵ به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین درصد خسارت را به خود اختصاص دادند. ژنوتیپ‌های تبریز ۸ و پلی‌کراس بم ۱۴ به ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین میزان کلروفیل بودند. ژنوتیپ‌های محلی میاندوآب، Depuits و یزدی ۳۵ به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین ارتفاع بوته در زمان حمله آفت را به خود اختصاص دادند. بالاترین مقایسه میانگین عملکرد علوفه تر مربوط به ژنوتیپ همدانی ۱۰ و کم‌ترین میزان عملکرد به ژنوتیپ پلی‌کراس یزد ۸ اختصاص پیدا کرد. ژنوتیپ‌های اسدآباد ۲ و پلی‌کراس بم ۱۴ به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان علوفه خشک را به خود اختصاص دادند. با بررسی ارتفاع زمان برداشت مشاهده شد که ژنوتیپ بغدادی ۴ دارای بیش‌ترین طول و مائوپا ۸۹ دارای کم‌ترین طول بود. نسبت عملکرد علوفه خشک به عملکرد علوفه تر در رقم پلی‌کراس یزد ۸ بالاترین میزان بود. درصورتی‌که اکثر ژنوتیپ‌ها نسبت به درصد ماده خشک، در یک گروه بودند به‌جز ژنوتیپ تک بوته ۹۲ که کم‌ترین درصد ماده خشک را داشت. ارقام پلی‌کراس بم ۱۳ و پلی‌کراس یزد ۸ با داشتن کم‌ترین تعداد لارو و حداقل درصد خسارت و حداکثر درصد ماده خشک جزو گیاهانی هستند که به حمله آفت سرخرطومی مقاوم هستند. رقم کالیورد ۳۲۱۵۸۸ بالاترین تعداد لارو و درصد خسارت را در مقایسات میانگین نشان داد. این ژنوتیپ با وجود بالابودن درصد خسارت توان جبران خسارت را داشت و درصد ماده خشک خود را تا زمان برداشت علوفه افزایش داد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی بر درجه تحمل ارقام یونجه در شرایط حمله آفت سرخرطومی.

Table 3- Comparison of the average of main effects on the degree of resistance in alfalfa cultivars under the conditions of weevil attack.

Cultivar	Dry Matter Percentage	Harvest Time Height (cm)	Yield of Dry Fodder (gr)	Yield of Wet Fodder (gr)	Damage Time Height (cm)	SPAD	Damage Percentage (%)	Number of Larvae
1	39.495^{ijklm}	54.83^{defghij}	247.13^{hijklm}	624.5^{ghij}	40.75^{abcde}	54.36^{ab}	21.875^{bcde}	22.835^{hij}
2	43.035^{ghijkl}	60.58^{abcd}	324.9^{cdefghi}	756.00^{defgh}	41.085^{abcde}	54.935^{a}	35.00^{abcd}	31.500^{cdefg}
3	39.43^{ijklm}	55.995^{bcdefghi}	308.89^{efghijk}	783.00^{defg}	38.415^{abcde}	48.96^{ab}	47.875^{a}	29.33^{defgh}
4	43.770^{ghij}	55.665^{cdefghi}	206.56^{lm}	469.00^{jk}	31.58^{e}	53.31^{ab}	12^{e}	16.16^{jkl}
5	38.32^{jklmn}	54.765^{defghij}	256.65^{ghijklm}	669.5^{fghi}	44^{abcd}	53.545^{ab}	34.125^{abcd}	24.500^{fghi}
6	37.62^{jklmn}	62.665^{ab}	263.53^{ghijklm}	702.5^{efgh}	41.665^{abcd}	55.305^{a}	32.25^{abcd}	33.165^{cde}
7	25.425^{p}	50.995^{hijk}	210.56^{lm}	828^{def}	39.585^{abcde}	55.325^{a}	39.375^{abc}	44.17^{a}
8	33.805^{mno}	49.165^{ijkl}	246.11^{hijklm}	628^{ghij}	35.25^{de}	54.09^{ab}	34.75^{abcd}	32.115^{cdef}
9	36.995^{lmn}	53.495^{efghijk}	218.43^{klm}	590.5^{hij}	35.75^{cde}	57.15^{a}	19.25^{cde}	25.135^{fghi}
10	42.090^{ghijkl}	54.33^{efghij}	373.94^{cdef}	887^{cd}	43.415^{abcd}	51.025^{ab}	31.375^{abcde}	11.5^{l}
11	41.79^{ghijkl}	53.18^{fghij}	417.05^{bc}	1119^{ab}	43.165^{abcd}	52.945^{ab}	25^{bcde}	33.635^{cde}
12	45.22^{fghi}	63.165^{a}	400.07^{bcde}	885^{cd}	39.835^{abcde}	54.025^{ab}	32.75^{abcd}	13.665^{kl}
13	33.74^{mno}	58.33^{abcdefg}	411.11^{bcd}	1140.5^{ab}	46.08^{abcde}	52.895^{ab}	33.375^{abcd}	13.665^{kl}
14	37.44^{klmn}	51.495^{ghijk}	285.05^{ghijklm}	693.5^{efgh}	38.745^{abcde}	52.68^{ab}	40.25^{ab}	33.67^{cde}
15	39.945^{hijkl}	49.33^{ijkl}	267.76^{ghijklm}	673.5^{fghi}	38.33^{abcde}	54.125^{ab}	40.625^{ab}	38.500^{abc}
16	43.62^{ghijk}	60.33^{abcde}	209.03^{lm}	601.5^{ghi}	38.245^{abcde}	50.195^{ab}	46.250^{a}	25.500^{fghi}
17	39.975^{hijkl}	50.66^{hijkl}	477.03^{ab}	1190.5^{a}	43.415^{abcd}	51.615^{ab}	36.125^{abcd}	29.165^{defgh}
18	39.07^{ijklmn}	57.16^{abcdefgh}	249.12^{hijklm}	637^{ghi}	39.83^{abcde}	53.175^{ab}	36.625^{abcd}	41.835^{ab}
19	30.19^{op}	62.75^{ab}	226.66^{jklm}	1028^{bc}	41.915^{abcd}	54.375^{ab}	18.625^{de}	19.165^{ijk}
20	46.025^{fgh}	44.2^{l}	338.26^{cdefgh}	668.5^{efgh}	38.5^{abcde}	55.515^{a}	39.375^{abc}	24.67^{fghi}
21	60.99^{ab}	48.33^{jkl}	317.67^{defghij}	519.5^{ijk}	36.335^{bcde}	48.48^{ab}	20.5^{bcde}	24.83^{fghi}
22	62.405^{a}	46.83^{kl}	238.17^{ijklm}	381.5^{k}	38.58^{abcde}	51.665^{ab}	23.125^{bcde}	12.665^{kl}
23	26.255^{p}	61.165^{abcd}	197.02^{m}	750^{defgh}	41^{abcde}	45.555^{b}	40.125^{ab}	17.83^{ijkl}
24	52.03^{cde}	60.16^{abcde}	388.17^{bcdef}	719^{efgh}	41.33^{abcde}	53.735^{ab}	28.75^{abcde}	35.67^{bcd}
25	56.51^{bc}	55.66^{cdefghi}	416.7^{bc}	626.5^{ghij}	41.17^{abcde}	54.325^{ab}	45.5^{a}	35.835^{bcd}
26	53.38^{cd}	53.165^{fghijk}	382.1^{cdef}	715^{efgh}	40.58^{a}	55.815^{a}	32.75^{abcd}	27.5^{efgh}
27	33.32^{no}	61.83^{abc}	350.58^{cdefg}	1052^{ab}	46.665^{ab}	52.375^{ab}	35.375^{abcd}	37.335^{abc}
28	47.485^{efg}	49.165^{ijkl}	407.32^{bcd}	855.5^{de}	46.665^{ab}	51.695^{ab}	33.5^{abcd}	29.165^{defgh}
29	42.145^{ghijkl}	49.33^{ijkl}	295.08^{fghijkl}	699.5^{efgh}	39.92^{ab}	53.605^{ab}	38.25^{abcd}	23.165^{hij}
30	50.15^{def}	58.83^{abcdef}	535.05^{a}	1066.5^{ab}	45.495^{ab}	53.11^{ab}	39^{abc}	23.83^{ghi}

*حروف مشابه نشان‌دهنده یکسانی و یا عدم تفاوت معنی‌دار است.

۲-۳- تجزیه همبستگی

در بررسی همبستگی ساده، صفات تعداد لارو و میزان خسارت در سطح احتمال ۵% همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفت ارتفاع زمان خسارت با صفت عملکرد علوفه تر و خشک در سطح احتمال ۱% وجود داشت. همچنین بین صفات عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک در سطح ۱% رابطه مثبت و معنی‌داری ظاهر شد. در **جدول ۴**، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد علوفه تر با صفت عملکرد علوفه خشک (**۰/۶۳۲) در سطح احتمال ۱% و همچنین در سطح احتمال ۵% همبستگی معنی‌داری با صفت ارتفاع زمان برداشت (*۰/۳۱۲) و صفت درصد ماده خشک (*۰/۳۷۷-) وجود داشت. صفت درصد ماده خشک همبستگی مثبت و معنی‌داری با صفت عملکرد علوفه خشک (*۰/۳۹۵) داشت چرا که هر چقدر عملکرد علوفه خشک بیش‌تر باشد طبیعتا درصد ماده خشک نیز افزایش می‌یابد و بالعکس، همچنین بین میزان عملکرد علوفه تر با درصد ماده خشک (*۰/۳۷۷-) همبستگی معنی‌دار و مثبت نمایان گردید چرا که هر چقدر عملکرد علوفه تر زیادتر باشد یعنی رطوبت بیش‌تری داشته و بافت آن به اصطلاح آب‌دار تر است لذا جهت عکس با صفت درصد ماده خشک پیدا می‌کند؛ که مصطفوی و همکاران [15] نیز نتایج مشابهی مبنی بر همبستگی بین صفات عملکرد علوفه گزارش نمودند. در پژوهش جعفری و گودرزی [14] نتایج تجزیه همبستگی عملکرد علوفه با دیگر صفات رابطه مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱% نشان داده است.

جدول ۴- تجزیه همبستگی بین صفات زراعی و صفات مقاومت به آفات در ۳۰ ژنوتیپ یونجه براساس میانگین داده‌های چین اول.
Table 4- Correlation analysis between agricultural traits and pest resistance traits in 30 alfalfa genotypes based on the average data of the first order.

Traits	Number of Larvae	Damage Percentage	SPAD	Damage Time Height	Yield of Wet Fodder	Yield of Dry Fodder	Harvest Time Height
Damage Percentage	0.39*						
SPAD	0.266*	-0.204 ns					
Damage Time Height	0.034 ns	0.255 ns	-0.075 ns				
Yield of Wet Fodder	0.020 ns	0.161 ns	-0.033 ns	0.734 ns			
Yield of Dry Fodder	-0.015 ns	0.189 ns	0.030 ns	0.606**	0.632**		
Harvest Time Height	-0.074 ns	0.019 ns	-0.064 ns	0.295 ns	0.312**	0.025 ns	
Dry Matter Percentage	-0.165 ns	-0.147 ns	-0.023 ns	-0.113 ns	-0.377*	0.395*	-0.302 ns

**، *و ns، به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱%، ۵% و عدم معنی‌داری.

در تجزیه همبستگی **جدول ۴** بین صفات زراعی و صفات مقاومت به آفت بر اساس میانگین داده‌های چین اول، میزان خسارت و میزان کلروفیل با تعداد لارو رابطه معنی‌دار در سطح احتمال ۵% داشتند. عملکرد علوفه خشک با ارتفاع زمان خسارت و عملکرد علوفه تر رابطه معنی‌دار در سطح احتمال ۱% و همچنین صفات ارتفاع زمان برداشت با عملکرد علوفه تر و درصد ماده خشک با عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک در سطح احتمال ۵% رابطه معنی‌داری داشتند. می‌توان از این تجزیه نتیجه گرفت ژنوتیپ‌هایی که تجمع لارو سرخرطومی بر روی آن‌ها بیش‌تر بود، از خصوصیت سبزینگی و شادابی بالایی برخوردار بوده و این چنین ارقام مطلوبیت و خوش خوراکی بالایی برای لاروها داشتند. در واقع این خاصیت برای چنین ارقامی می‌تواند بیانگر وجود مکانیسم رجحان (Preference) در آن‌ها باشد. وجود رجحان در گیاه باعث افزایش حساسیت آن‌ها در مقابل تغذیه و یا حمله آفت محسوب شود. برعکس ارقامی که کلروفیل کم‌تری داشتند، برای تغذیه لاروها یک عدم رجحان محسوب شده و لذا لاروها کم‌تر به آن‌ها خسارت وارد کرده است. چنین ارقامی در برابر تغذیه آفت مقاومت کرده و این نوع مقاومت ژنتیکی است و از نوع عدم رجحان (non-preference) محسوب می‌گردد. با افزایش صفت ارتفاع میزان تاج پوشش افزایش می‌یابد که تاثیر مستقیم روی عملکرد علوفه تر و در نهایت روی عملکرد علوفه خشک دارد. بدیهی است که با افزایش ارتفاع بوته میزان عملکرد علوفه تر بالا می‌رود که کاملا طبیعی و منطقی است. مرحله ۱۰% گل‌دهی، زمان برداشت در نظر گرفته شد و این به معنای آغاز گل‌دهی و بهترین زمان برداشت برای حصول به بالاترین عملکرد علوفه با کیفیت بود. مظاهری‌لقب [4] و نیز رضایی و همکاران [19] بهترین زمان برداشت را برای این گیاه آغاز زمان گل‌دهی یعنی همان ۱۰% گل‌دهی قلمداد کردند. جعفری و همکاران [14]، و جعفری و همکاران [20] رابطه مستقیم و معنی‌داری بین عملکرد علوفه با صفت ارتفاع بوته گزارش نمودند. هانا [21] نتیجه گرفت که کاهش ارتفاع یونجه باعث کاهش عملکرد علوفه خشک می‌گردد. همبستگی منفی بین عملکرد علوفه تر و درصد ماده خشک را می‌توان چنین توجیه کرد که این ژنوتیپ‌ها به دلیل وجود در منطقه نیمه‌خشک میزان آب بیش‌تری در خود ذخیره می‌کنند و آب بیش‌تر در بافت‌ها باعث می‌شود وزن علوفه تر بالا برود و در نهایت درصد ماده خشک کاهش یابد. کرامر [20] و مورگان [21] گیاهان با مکانیسم‌های مختلف در زمان تنش خشکی فشار آماس سلول‌های خود را بالا نگه می‌دارند. هانسون [22] عنوان داشت که مکانیسم‌های افزایش فشار آماس سلولی، سلول‌های گیاهان غلظت بعضی از عناصر و حتی متابولیت‌ها را در واکوئل و یا سیتوزول افزایش می‌دهند و باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول و حفظ فشار آماس سلولی در سطح بالا می‌شوند.

۳-۳- تجزیه رگرسیون گام به گام

در رگرسیون گام به گام میزان خسارت به‌عنوان متغیر تابع **جدول ۵** و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در این رگرسیون تعداد لارو، میزان کلروفیل و ارتفاع زمان خسارت با ضریب تبیین تجمعی (۳۰/۰۱) بیش‌ترین تغییرات میزان خسارت را توجیه نمودند. براساس رگرسیون گام به گام (میزان خسارت به‌عنوان متغیر تابع) و جدول مقایسه میانگین می‌توان نتیجه گرفت ارقام یزدی ۳۵ و مائو پا ۱۰۲ با داشتن کم‌ترین تعداد لارو و میزان خسارت و تقریبا بهترین ارتفاع زمان خسارت مقاوم‌ترین ارقام به آفت سرخرطومی بوده و ارقام تک بوته ۹۲ و محلی میاندوآب با داشتن بالاترین تعداد لارو و میزان خسارت و کم‌ترین ارتفاع زمان خسارت به‌عنوان ارقام حساس به سرخرطومی شناخته شدند.

جدول ۵- رگرسیون گام به گام برای میزان خسارت به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل بر اساس میانگین داده‌های چین اول.

Table 5- Stepwise regression for the amount of damage as a function variable and other attributes as an independent variable based on the average of the first row data.

Step by Step Regression Stage			
Variable added to the Model	1	2	3
Y-Intercept	22.63	84.08	58.69
Number of Larvae	0.39	0.48	0.46
SPAD		-1.20	-1.13
Damage Time Height			0.54
Cumulative Explanatory Coefficients	15.23	25.42	30.01

در **جدول ۶**، رگرسیون گام به گام که عملکرد علوفه خشک به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند، صفات عملکرد علوفه تر، درصد ماده خشک، میزان خسارت و میزان کلروفیل با ضریب تبیین تجمعی ۹۰/۲۶ بیش‌ترین میزان عملکرد علوفه خشک را توجیه نمودند. در توجیه این مطلب می‌توان اظهار داشت که حدود ۱۰% باقیمانده در نتیجه روابط غیرخطی بین صفات است. همچنین با توجه به جدول مقایسه میانگین و رگرسیون گام به گام براساس درصد ماده خشک ارقام همدانی ۱۰ و شهر ری ۱۷ با داشتن بالاترین عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک، بالاترین درصد ماده خشک را به خود اختصاص داده و همچنین ارقام تبریز ۸ و پلی‌کراس بم ۱۴ با داشتن کم‌ترین عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک، کم‌ترین درصد ماده خشک را به خود اختصاص دادند که نشان‌دهنده این است که این ارقام نتواستند خسارت ناشی از حمله آفت را جبران کنند. نتایج پژوهش جعفری و گودرزی [14] نشان داد که صفت ارتفاع بوته در مطالعه مقاومت جمعیت‌های یونجه به سرخرطومی، بیش‌ترین تغییرات تولید علوفه را توجیه نمود.

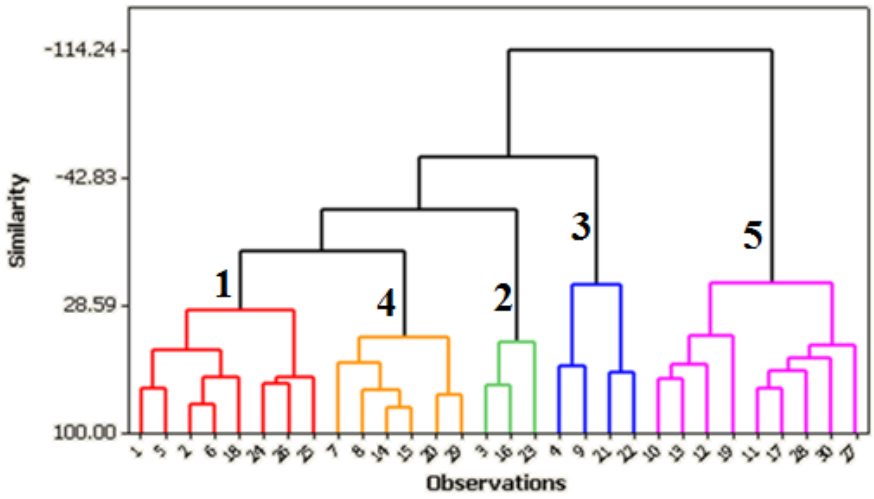
جدول ۶- رگرسیون گام به گام بر اساس عملکرد علوفه خشک به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل بر اساس میانگین داده‌های چین اول.

Table 6- Stepwise regression based on dry fodder yield as function variable and other traits as independent variables based on the average data of the first row.

Step by Step Regression Stage				
Variable added to the Model	1	2	3	4
Y-intercept	101.6	-301.9	-355.4	-591.1
Yield of Wet Fodder	0.278	0.400	0.392	0.393
Dry Matter Percentage		7.37	7.52	7.59
Damage Percentage			1.61	1.86
SPAD				4.2
Cumulative Explanatory Coefficients	39.97	86.66	89.04	90.26

۴-۳- تجزیه‌ی خوشه‌ای

ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس کلیه‌ی صفات با استفاده از میانگین داده‌های استاندارشده و با استفاده از روش WARD به پنج گروه متمایز دسته‌بندی شدند که در **شکل ۱** مشاهده می‌شود. خوشه‌ی اول شامل ژنوتیپ‌های ۱، ۵، ۲، ۶، ۱۸، ۲۴، ۲۶ و ۲۵، خوشه‌ی دوم شامل ژنوتیپ‌های ۳، ۱۶ و ۲۳، خوشه‌ی سوم شامل ژنوتیپ‌های ۴، ۹، ۲۱ و ۲۲، خوشه‌ی چهارم شامل ژنوتیپ‌های ۷، ۸، ۱۴، ۱۵، ۲۰ و ۲۹ و همچنین خوشه‌ی پنجم شامل ژنوتیپ‌های ۱۰، ۱۳، ۱۲، ۱۹، ۱۱، ۱۷، ۲۸، ۳۰ و ۲۷ بودند. در بررسی انحراف از میانگین کل در پنج خوشه‌ی حاصل از تجزیه خوشه‌ای که در **جدول ۷** مشاهده می‌شود در خوشه‌ی شماره ۳ صفات ارتفاع، زمان خسارت، عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک، ارتفاع در زمان برداشت و درصد ماده خشک بالاترین درصد انحراف از میانگین در جهت مثبت را داشتند؛ بنابراین ژنوتیپ‌های موجود در خوشه‌ی ۵ را می‌توان به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم به سرخرطومی معرفی کرد. ژنوتیپ‌های خوشه‌ی ۱ اگرچه دارای میزان بالایی از تعداد لارو و درصد خسارت بود ولیکن دارای میزان بالای درصد ماده خشک نیز بودند؛ بنابراین می‌توان این ژنوتیپ‌ها را حساس به آفت سرخرطومی برگ یونجه دانست و آن‌ها را دارای توان جبران خسارت معرفی کرد. در پژوهشی فومبلیدا [23] ۵۶ نمونه از تیپ‌های مهم یونجه مناطق شمال اسپانیا را با استفاده از صفات مورفولوژیک و زراعی از طریق تجزیه خوشه‌ای به ۴ گروه تقسیم کرد.



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه‌ی خوشه‌ای ژنوتیپ‌های یونجه با استفاده از روش WARD و فاصله اقلیدسی بر اساس میانگین کلیه‌ی صفات.

Figure 1- Dendrogram resulting from cluster analysis of alfalfa genotypes using the WARD method and Euclidean distance based on the average of all traits.

جدول ۷- درصد انحراف از میانگین کل صفات در پنج خوشه‌ی حاصل از تجزیه خوشه‌ای.

Table 7- Percentage of deviation from the average of all traits in 5 clusters resulting from cluster analysis.

Traits	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4	Cluster 5
Number of Larvae	0.52	-0.33	-0.84	0.65	-0.41
Damage Percentage	0.03	1.34	-1.66	0.65	-0.16
SPAD	0.58	-1.99	-0.14	0.52	-0.14
Damage Time Height	0.2	-0.39	1.45	-0.63	1.01
Yield of Wet Fodder	-0.42	-0.27	1.36	-0.32	1.27
Yield of Dry Fodder	0.02	-0.85	0.77	-0.5	0.95
Harvest Time Height	0.46	0.8	0.73	-1.1	0.38
Dry Matter Percentage	0.32	-0.63	1.01	-0.52	-0.18

۴- نتیجه‌گیری

ژنوتیپ‌های موجود در دندروگرام تجزیه خوشه‌ای بیانگر تنوع مطلوب بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد که متخصصین به‌نژادی را جهت برنامه‌های اصلاحی کمک می‌کند و قابل ذکر است که میزان پیشرفت در تولیدات گیاهی، به دامنه انتخاب به‌نژادگر بستگی دارد که اهمیت تنوع‌ژنتیکی را مشخص می‌کند. ژنوتیپ اسدآباد ۲ از نظر عملکرد علوفه تر (۱۰۶۶/۵) و عملکرد علوفه خشک (۵۳۵/۰۵) در بین ژنوتیپ‌های از میانگین عملکرد بالایی برخوردار است که در خوشه شماره ۵، تجزیه خوشه‌ای قرار گرفته است که می‌تواند با ژنوتیپ شماره ۱ (بغدادی ۱۱۰) که در خوشه ۱ تجزیه خوشه‌ای قرار گرفته است، دورگ‌های مطلوبی در شرایط کنترل‌شده ایجاد نمایند. چراکه دارای بیش‌ترین فاصله‌ی ژنی نیز هستند و در نسل‌های در حال تفرق تنوع مطلوبی برای انتخاب جهت برنامه‌های به‌نژادی فراهم خواهند کرد. پیشنهاد می‌شود که مطالعه تنوع بین ژنوتیپ‌های این گزارش علمی از دیدگاه ملکولی نظیر نشانگرهای DNA و نشانگرهای بیوشیمیایی (SDS-PAGE) و آیزوزایمی نیز مطالعه گردد و با داده‌های حاصل از صفات ناشی از ارزیابی‌های مزرعه‌ای مقایسه شوند و وجود یا عدم وجود ارتباط بین دو گروه داده حاصل از ارزیابی‌های مزرعه‌ای و ارزیابی‌های ملکولی بررسی گردند و تنوع احتمالی حاصل را با اطمینان بیش‌تری در خدمت برنامه‌های به‌نژادی آتی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

از دانشگاه بوعلی‌سینا و نیز همه‌ی عزیزانی که در کلیه مراحل این کار پژوهشی همکاری نمودند مراتب قدردانی و سپاسگزاری را داریم.

اعلام تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

منابع

[1] Kakaei, M., & Mazahery-Laghab, H. (2015). Study of genetic diversity, heritability and the correlation of different traits in alfalfa (Medicago sativa L.) related to alfalfa weevil (Hypera postica Gyll.) damage in alfalfa germplasm. *Plant genetic researches*, *2*(1), 63–76. http://pgr.lu.ac.ir/article-1-43-en.html

[2] Abusuwar, A. O., & Elhassan, B. (2009). Effect of water quality and weeding on yield and quality of three alfalfa ('medicago sativa L.') cultivars. *Australian journal of crop science*, *3*(6), 315–321.

[3] Keivani, M., Ramezanpour, S. S., Soltanloo, H., Choukan, R., Naghavi, M., & Ranjbar, M. (2010). Genetic diversity assessment of alfalfa ('medicago sativa'L.) populations using AFLP markers. *Australian journal of crop science*, *4*(7), 491–497. https://search.informit.org/doi/abs/10.3316/informit.536462857108857

[4] Mazaherilaghab, H. (2017). *Introduction to Forage Crops*. Bu-Ali Sina University Press. (**In Persian**). https://www.lib.ir/book/76175393

[5] Ronfort, J., Jenczewski, E., Bataillon, T., & Rousset, F. (1998). Analysis of population structure in autotetraploid species. *Genetics*, *150*(2), 921–930. https://doi.org/10.1093/genetics/150.2.921

[6] Zamaniyan, M., Dezfouli, S. A. H., & Harvan, I. M. (2001). Investigating the morphological and agronomic characteristics effective in the fodder yield of seven varieties of Iranian and foreign alfalfa. *Nahal and bazer journal*, *16*(1), 1-18 (**In Persian**). magiran.com/p2321780

[7] Abdmishani, A., & Shahnehjad, A. B. (1992). *Advanced Plant Breeding*. University of Tehran publishing and printing institute. (**In Persian**). https://www.lib.ir/fa/book/91968714

[8] Gorski, P. M., Miersch, J., & Ploszynski, M. (1991). Production and biological activity of saponins and canavanine in alfalfa seedlings. *Journal of chemical ecology*, *17*, 1135–1143. https://link.springer.com/article/10.1007/BF01402939

[9] Alizade, M. (2004). The studies and evaluation of main characteristics of the seed samples of four alfalfa population in reaction two species Fusarium. *Rangelands and forests plant breeding and genetic research*, *12*(1), 67-82 (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2004.115487

[10] Karimi, H. (2014). *Agricultural plants*. Tehran University Printing and Publishing Institute. (**In Persian**). https://www.gisoom.com/book/1294371

[11] Kakaei, M., & Mazaheri Laqab, H. (2023). Genetic analysis of path coefficients of some traits in relation with tolerance to alfalfa leaf weevil (hypera postica gell.). *Journal of genetic resources*, *9*(1), 83–91. http://sc.journals.umz.ac.ir/article_1658.htmlhttp:/sc.journals.umz.ac.ir/article_4292.html

[12] Kakaee, M., & Mazahery-laghab, H. (2014). Evaluation of alfalfa (Medicago Sativa L.) germplasm using multivariat 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

[13] Mazaheri, L. H., & Yazdi, S. B. (2004). Study of the resistance of alfalfa cultivars (medicago sativa) to alfalfa weevil (hypera postica gyll.) attack under water stress conditions. *64 in agronomy and horticulture*, *17*(3), 8-15 (**In Persian**). https://www.sid.ir/paper/19027/en

[14] Jafari, A. A., & Goodarzi, A. (2006). 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 (**In Persian**). https://doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2006.115055

[15] Mousavi, S. S., Samadi, B. Y., & Mostafavi, A. S. (2011). *Studying the genetic diversity of different varieties of alfalfa (Medicago sativa L.) by evaluating morphological traits* [Thesis]. https://elmnet.ir/vslgg?id=10539549-50251.

[16] Porfarhad, A., Farid, N., Aharizade, S., & Aliasheaf, J. (2009). Grouping ecotypes of alfalfa (Medicago sativa L.) with multivariate analysis of variance. *Azad university agriculture magazine*, *3*(9), 1-13 (**In Persian**). https://www.sid.ir/paper/182694/fa

[17] H, M. N. (n.d.). The annual alfalfa (Genetics reform). *Publications of the research institute of forests and pastures* ,(۲٦۷) , ۲۱۳-۲۱۳ (**In Persian**). https://www.sid.ir/paper/446673/fa

[18] Zamanian, M. (2003). Quantitative and qualitative evaluation of alfalfa cultivars forage yield in different cuts. *Journal of agricultural sciences and natural resources*, *10*(1), 73–82. (**In Persian**). https://www.sid.ir/paper/9386/en

[19] Rezaii, M., Amiri, R. M., Naghavi, M., Mohamadi, R., & Kaboli, M. (2010). Evaluation of phenotypic diversity of alfalfa (medicago sativa) ecotypes of Iran. *Sciences of agricultural plants of Iran*, *41*(1), 123–129. (**In Persian**). https://ijfcs.ut.ac.ir/article_20716_68371e70e87c2c411b47cd6c18a4a0db.pdf

[20] Jafari, A., Nigheh, M. N., & Sharifabad, H. H. (2003). Comparison of yield, morphological and quality traits of 18 ecotypes/varieties of alfalfa (medicago sativa) under optimom and drougth stress conditions. *Iranian journal of rangelands and forests plant breeding and genetic research*, *11*(1), 63-103 (**In Persian**). https://ijrfpbgr.areeo.ac.ir/article_115991_en.html

[21] Hana, W. (1993). Improving Forage Quality by Breeding. *International crop science* (pp. 671–675). https://doi.org/10.2135/1993.internationalcropscience.c106

[22] Kramer, P. J. (1983). *Problems in water relations of plants and cells*. (Vol. 85, pp. 253–286). Academic Press. DOI: https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)62375-X

[23] Morgan, J. M. (1984). Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual review of plant physiology*, *35*(1), 299–319. https://doi.org/10.1146/annurev.pp.35.060184.001503

[24] Hanson, A. D., Hoffman, N. E., & Samper, C. (1986). Identifying and manipulating metabolic stress-resistance traits. *HortScience*, *21*(6), 1313–1317. file:///C:/Users/user/Downloads/hortsci-article-p1313.pdf

[25] Fombellida, A. (1998). Selection of identification traits in the “Tierra de campos” alfalfa ecotype through discriminant analysis. *Quality in lucerne and medics for animal production.’(Eds I Delgado, J Lloveras) pp*, 61-65.
https://om.ciheam.org/om/pdf/a45/01600058.pdf