مجله ترویجی علوفه و خوراک دام

معرفی جمعیت مرجع اسپرس به منظور بهره برداری در برنامه های به نژادی

محمدرضا عباسی

استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد

*. نویسنده مسئول: m.abbasi@areeo.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۲۳

عباسی، م ر. ۱۴۰۲. معرفی جمعیت مرجع اسپرس به‌منظور بهره‌برداری در برنامه‌های به‌نژادی .مجله ترویجی علوفه و خوراک دام. ٤ (۲): ۸۰-۸۸

چکیده

اسپرس از لگوم‌های علوفه‌ای است که بصورت منفرد یا کشت مخلوط در سیستم‌های زراعی کشور دارای جایگاه می‌باشد. ولی اصلاح و به نژادی ارقام زراعی آن در کشور در ابتدای مسیر قرار دارد. یکی از روش‌هایی که در به‌نژادی گیاهان دگرگشن برای تولید ارقام استفاده می‌شود، ایجاد جمعیت مرجع است که در این تحقیق استفاده گردید. این جمعیت، حاصل از تلاقی چندگانه چندین والد برتر در صفات مختلف زراعی در چند نسل متوالی است. بدین منظور، تعداد ۵ نمونه ژنتیکی با صفات تحمل به سفیدک، عملکرد علوفه بالا، سرعت رشد بالا و ... حاصل از تحقیقات قبلی مورد استفاده قرار گرفت و درطی سه نسل در سه سال متوالی طبق دستورالعمل تهیه جمعیت مرجع، جمعیت مطلوب حاصل گردید. کشت در پاییز و در ۱۲ تکرار در ایستگاه تحقیقات طرق مشهد انجام شد. در تابستان سال بعد، بذر هر گیاه استحصال و برای تهیه نسل بعد در همان سال مورد استفاده قرار گرفت. این عمل برای دو سال دیگر نیز تکرار گردید. در سال چهارم، والدین، جمعیت‌های نیمه خواهری و نسل‌های تولید شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی کشت شدند. پراکنش نمونه‌های والدینی، نیمه خواهری و نسل‌های تلاقی مرکب در بای پلات حاصل از تجزیه به عامل‌ها برای دو عامل اول و همچنین تجزیه خوشه‌ای بدست آمد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در برخی از صفات همانند حساسیت به سفیدک برگی، مقدار آن در والدین بیشر از جمعیت تولیدی بود. نتایج نشان داد که انجام تلاقی‌های مرکب موفق بوده است. در این مطالعه جمعیت مرجعی تولید با تحمل بالا به سفیدک سطحی برگ و عملکرد مناسب علوفه تولید شد که می‌تواند در برنامه های به نژادی اسپرس مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، پیش به نژادی، تلاقی‌های چندگانه (مرکب)، ارزیابی صفات،

مقدمه

اسپرس یکی از لگوم‌های علوفه‌ای است که به دلیل عدم ایجاد نفخ در نشخوارکنندگان، داشتن ارزش تغذیه‌ای بالا و همچنین تحمل بالا به برخی شرایط نامناسب محیطی از جمله خشکی در مقایسه با سایر لگوم‌های علوفه‌ای مثل یونجه و شبدر مقبولیت مناسبی در بین بهره برداران و محققین دارد. تلاقی‌های نیمه خواهری (Half sib mating) از جمله تلاقی‌های چندگانه (Polycross) و گرده افشانی باز (OP) روش‌های قدرتمندی برای بدست آوردن اطلاعات ژنتیک کمی در به نژادی گیاهان علوفه‌ای دگرگشن و چند ساله می‌باشد (۹) در یک مطالعه (٦) تعداد ۳۰ جمعیت نیمه خواهری از اسپرس زراعی در طی دو شرایط معمولی و تنش کم آبی بررسی شدند. در این مطالعه نشان داده شد که جمعیت‌های گرده افشان باز مقادیر میانگین بیشتر و همچنین توانایی ترکیب پذیری عمومی بیشتری برای اکثر صفات داشتند. در صورتی که جمعیت‌های تلاقی‌های چندگانه وراثت پذیری و بازده ژنتیکی بیشتری را در گزینش نشان دادند. این نکته می‌تواند دلیلی بر گزینش موثرتر و پیشرفت ژنتیکی بالاتر در جمعیت‌های تلاقی چندگانه در اسپرس باشد (٦). همچنین نمونه‌های متحمل به بیماری سفیدک سطحی برگ، با ارزیابی نمونه هایی از اسپرس در مناطق مختلف طی چندسال توسط علیزاده و همکاران حاصل شده است (۳). دو استراتژی به نژادی و بهره برداری از منابع ژنتیکی در گیاهان علوفه‌ای دگرگشن که یکی ایجاد تلاقی به روش نیمه دورگ (Semi hybrid) و دیگری ایجاد جمعیت‌های مرجع به روش تلاقی‌های مرکب (Composite crossing) است، در مرکز تحقیقات گیاهان علوفه‌ای لودی–ایتالیا که یکی از مهمترین مراکز در اصلاح و آزادسازی ارقام مختلف گیاهان علوفه‌ای در اروپا و جهان است، انجام می شود. عمده تحقیقاتی به نژادی اسپرس در کشور بر ارزیابی و استفاده از تنوع موجود در میان توده‌های بومی کشور برای مقاصد مختلف استوار بوده است (۲،۷، ۸). استراتژی ارزیابی مواد و استفاده مستقیم از تنوع موجود، گرچه در کوتاه مدت برای یک صفت یا تعداد محدودی صفات، برای بهره برداری مناسب بوده ولی در مقاصد و منظورهای متفاوت به نژادی، با تکرار چرخه‌های گزینشی بسیار طولانی خواهد شد. لذا استفاده از استراتژی تجمیع صفات با بهره‌گیری از تلاقی‌های چندگانه مرکب، در یک جمعیت علاوه بر کاهش زمان باعث کاهش در هزینه‌های اجرای آزمایشات می‌شود. وجود تنوع در نمونه‌های اسپرس به دلیل دگرگشن بودن گیاه امری معمول می‌باشد. لذا روش تولید جمعیت مرجع بر استفاده از همین تنوع تاکید می‌نماید، و چنانچه بتوان این صفات که در نمونه‌های مختلف تظاهر متفاوتی دارند را در یک جمعیت جمع کرد، می‌توان چشم‌انداز خوبی برای بکارگیری جمعیت مرجع در تولید ارقام متحمل به شرایط متفاوت محیطی بدست آورد. بنابراین نگاشته حاضر بر تاکید بر تجمیع صفات ژنتیکی نمونه های مطلوب بومی اسپرس (۱ و۲) در جمعیت مرجع با استفاده از تلاقیهای چندگانه مرکب و ایجاد جمعیت مرجع برای استفاده های بعدی استوار خواهد بود. این آزمایش در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی طرق شهرستان مشهد انجام شد. جمعیت اسپرس مرجع حاصله از تلاقیهای چندگانه، قابلیت ارزیابی در شرایط تنش‌های محیطی برای نیل به تولید کولتیوارهای مطلوب را خواهد داشت.

مواد و روشها

والدین مورد استفاده

مشخصات نمونه های ژنتیکی از گونه Onobrychis altissima .Grossh که به عنوان جمعیت‌های والدینی (Par) مورد استفاده قرار گرفتند و همچنین منشا و صفات مطلوب هر کدام در زیر آمده است. علاوه بر داشتن عملکرد علوفه بالا، سایر صفات مهم نمونه ها عبارتند از:

ردیف	شماره توده	منشاء توده	صفت مطلوب
۱	52TN000224	خوی	متحمل به سفیدک
۲	52TN000303	تبریز	عملکرد علوفه بالا
۳	52TN000498	اهر	دارای سرعت رشد بالا
٤	52TN000395	زنجان	دارای برگچه زیاد و متحمل به ریزش نیام
٥	52TN000470	فریدن	دارای سرعت رشد بالا

یک بذر از هر گیاه در هر نسل (هر والد در ۱۲ تکرار کشت شد و مجموعا حدود۱۵۰ گیاه از هر والد بذرگیری شد) برای ایجاد تلاقی‌های چندگانه اخذ و در پاییز همان سال در مزرعه کشت گردید. همچنین بذر هر جمعیت که از نظر والد مادری مشخص ولی والد پدری نامشخص بود بصورت بالک از تمامی خطوط کشت شده مربوط به یک جمعیت (والدمادری) اخذ شد (این جمعیت‌ها به عنوان جمعیت‌های نیمه خواهری هستند که در این گزارش با HS مشخص شده اند). صفات مختلف زراعی-موروفونولوژیکی (agro-morphophonological) در جمعیتها یادداشت شدند. آزمایش از پاییز ۱۳۹۷ با کشت والدین در مزرعه ایستگاه تحقیقات طرق شروع شد. سپس در تابستان سال ۱۳۹۸ نسل اول حاصل گشت که مجددا در پاییز همان برای ایجاد نسل دوم سال کشت گردید. به همین طریق در تابستان ۱٤۰۰ نسل سوم نیز حاصل گردید. برای تولید جمعیت هر نسل از ایزوله مکانی استفاده گردید. جمعیت مرجع حاصله می تواند در شرایط محیطی متفاوت سازگاری آن بررسی شود که موضوع تحقیقات بعدی خواهد بود. در این مطالعه فقط جمعیت مرجع تولید گردید.

نتایج و بحث

جمعیت بدست آمده و مقایسه آن با والدین

پارامترهای آماری تمایل به مرکز و پراکندگی صفات مختلف محاسبه شد. بر این اساس تعداد روز تا گلدهی از ۲۸ تا ٤۱ با میانگین ۳۳/٦ روز متغییر بود. ارتفاع گیاه در گلدهی از ٤۰ تا ۷۳/۳ سانتیمتر با میانگین ٥۸/٤ سانتیمتر تغیر می‌کرد. همچنین میانگین تعداد برگ در گیاه و تعداد برگچه در برگ در چین یک به ترتیب ٥ و ۷/٤ عدد بود.نسبت برگ به ساقه در چین یک ۱/۱ در صورتی که در چین‌های دو و سه به ترتیب ۱/۸ و ۲ بود. وزرن خشک تک بوته در چین یک ٥ تن در هکتار در صورتی که در چین‌های دوم و سوم به ترتیب ۳/٥ و ٤/۳ تن در هکتار بدست آمد.

مقایسه جمعیت‌های حاصل از تلاقی مرکب با والدین و جمعیت های نیمه خواهری نشان داد صفات مطلوب در جمعیت تولیدی وجود دارد. بر این اساس جمعیت تولید شده تلاقی مرکب نسل سوم، در برخی صفات نسبت به برخی از والدین و تمامی جمعیت‌های نیمه خواهری برتر بودند. به عنوان مثال در صفات عملکرد در سه چین و حساسیت به سفیدک برگ، برتر بودند. همچنین در صفات میانگین طول برگ، طول گل آذین، نسبت برگ به ساقه جمعیت‌های تولیدی وضعیت مناسبی نشان دادند (جدول۱).

جدول۱- نتایج حاصل از گروهبندی به روش دانکن در والدین (Par)، جمعیت‌های نیمه-خواهری (HS) و جمعیت‌های تلاقی مرکب نسل‌های یک (C1) تا سه (C3) در صفات مختلف

جمعیتها*	علوفه خشک (ton/ha)	طول برگ (cm)	طول گل آذین (cm)	طول دم گل آذین (cm)	نسبت برگ به ساقه چین۱	طول ساقه (cm)	تعداد برگچه در برگ	حساسیت به سفیدک برگی**
HS 224	3/30 cd	11/3 abc	31/1 c	20/4 b	1/10 ab	57/2 ab	7/8 ab	2/3 bc
HS 303	4/05 cd	11/9 abc	35/0 abc	21/9 b	1/06 ab	55/8 ab	7/2 ab	2/0 bc
HS 395	4/54 cd	11/7 abc	35/1 abc	22/2 b	1/06 ab	62/3 a	7/2 ab	0/7 c
HS 470	4/43 cd	11/1 bc	32/4 bc	20/6 b	1/07 ab	59/2 ab	7/2 ab	5/7 ab
HS 498	3/13 d	11/6 abc	32/6 bc	22/1 b	1/21 ab	56/8 ab	8/2 a	3/3 bc
Par 224	5/51 bcd	10/3 c	35/7 abc	22/1 b	1/25 a	63/4 a	7/2 ab	2/0 bc
Par 303	5/13 cd	11/8 abc	38/4 a	24/8 ab	1/18 ab	58/1 ab	7/9 ab	5/0 abc
Par 498	8/80 a	10/2 c	31 c	20/8 b	1/02 ab	62/9 a	6/8 b	2/3 bc
Par 395	7/21 ab	12/3 ab	34/6 abc	24/0 b	1/15 ab	60/7 a	7/3 ab	1/0 c
Par 470	5/13 cd	13/0 a	37/3 ab	28/2 a	0/92 ab	61/7 a	7/0 ab	8/0 a
Poly C1 98	3/97 cd	10/9 bc	36/3 abc	21/6 b	1/06 ab	58/4 ab	7/7 ab	1/7 bc
Poly C2 99	5/29 bcd	10/9 bc	36/1 abc	23/1 b	1/08 ab	60/1 a	7/6 ab	1/0 c
Poly C3 1400	5/29 bcd	12/6 ab	33/9 abc	23/8 b	1/21 ab	47/3 b	7/1 ab	0/7 c

HS* : جمعیت نیمه خواهری Par: جمعیت والدی **: حساسیت به سفیدک (نمراتی بین ۰ کاملا مقاوم، ۵ متوسط و ۹ کاملا حساس)

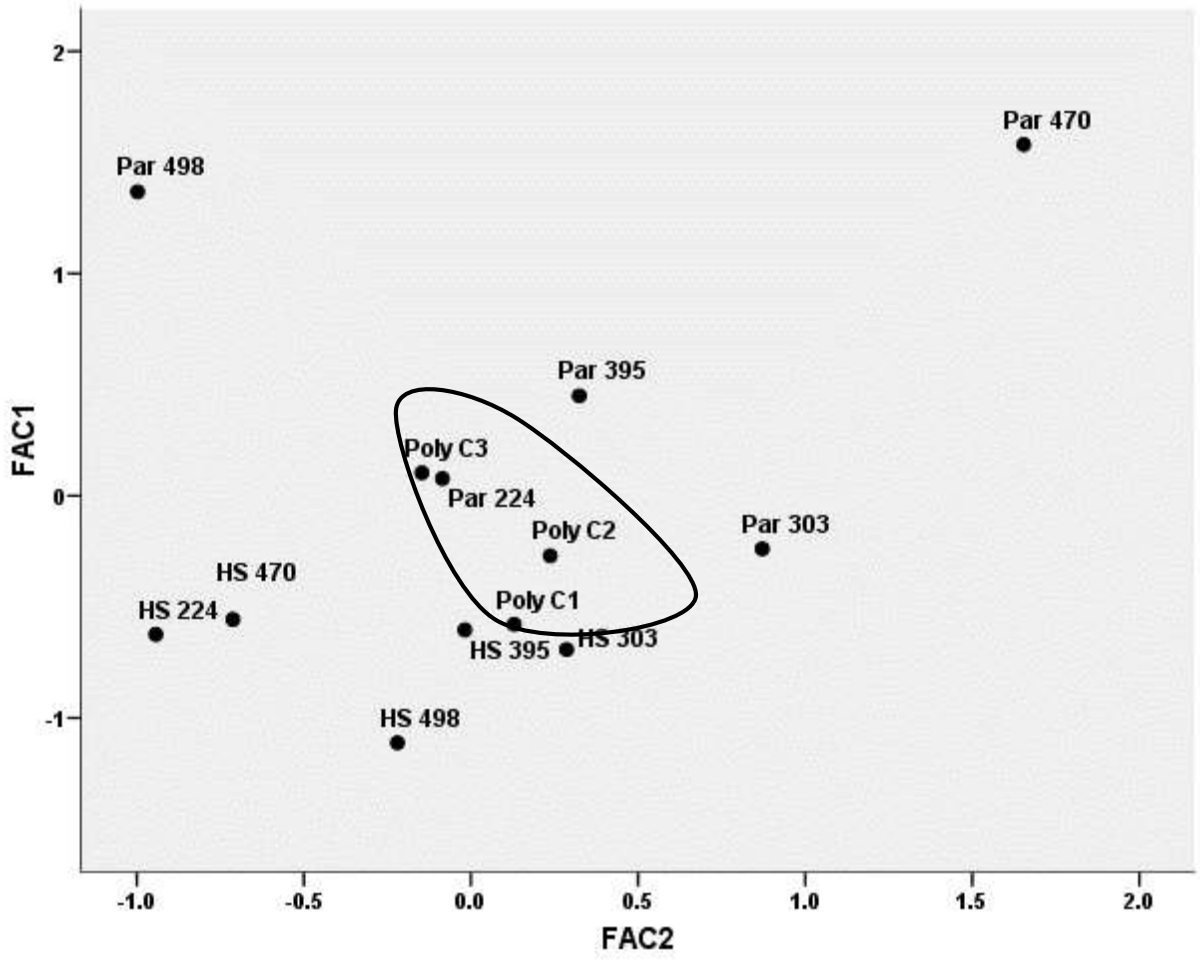
همچنین سه گروه: مواد والدینی (گروه۱)، جمعیتهای نیمه خواهری (گروه۲) و سه نسل جمعیت‌های تلاقیهای مرکب (گروه۳) نسبت به هم مورد بررسی قرار گرفتند. مقایسه میانگین سه گروه (والدی، نیمه خواهری و تلاقی مرکب) در صفات مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. در صفت حساسیت به سفیدک برگ، بیشترین حساسیت در گروه والدی (گروه ۱) با نمره ۳/۷ و کمترین آن در جمعیت تلاقی مرکب (گروه۳) با میانگین نمره ۱/۱ دیده شد. لازم به ذکر است که جمعیت نیمه خواهری (گروه۲) با میانگین نمره ۲/۸ در بین این دو گروه قرار گرفت. در صفت تعداد روز تا گلدهی گروه والدینی با ۳۵/۷ روز در بالاترین گروه و تلاقی مرکب با ۳۱/۸ روز در پایین‌ترین گروه قرار گرفت و گروه جمعیت نیمه خواهری با ۳۲/۸ در گروه وسط قرار گرفت. چنین روندی برای صفت ارتفاع گیاه در گلدهی نیز دقیقا مشاهده شد. در صفت عملکرد خشک علوفه در میانگین سه چین، تفاوتی در میانگین این صفت بین گروه والدی و تلاقی مرکب دیده نشد (جدول ۲). لازم به ذکر است تظاهر سفیدک برگی در شرایطی که رطوبت محیطی بالا باشد بروز می کند و معمولا در بهار و آخر فصل دیده می‌شود.

جدول ۲- نتایج حاصل از گروه‌بندی به روش دانکن در سه گروه (والدی (گروه۱)، نیمه خواهری (گروه۲) و تلاقی مرکب (گروه۳)) اسپرس‌ها مورد بررسی

گروه	تعداد مقایسه	حساسیت به سفیدک برگی*	نعداد روز تا گلدهی	طول ساقه (cm)	طول دم گل آذین (cm)	علوفه خشک (ton/ha)
۱	15	3/7 a	35/7 a	61/4 a	24/0 a	6/35 a
۲	15	2/8 ab	32/8 b	58/3 ab	21/4 b	3/89 b
۳	12	1/1 b	31/8 b	54/9 b	22/3 ab	4.85 ab

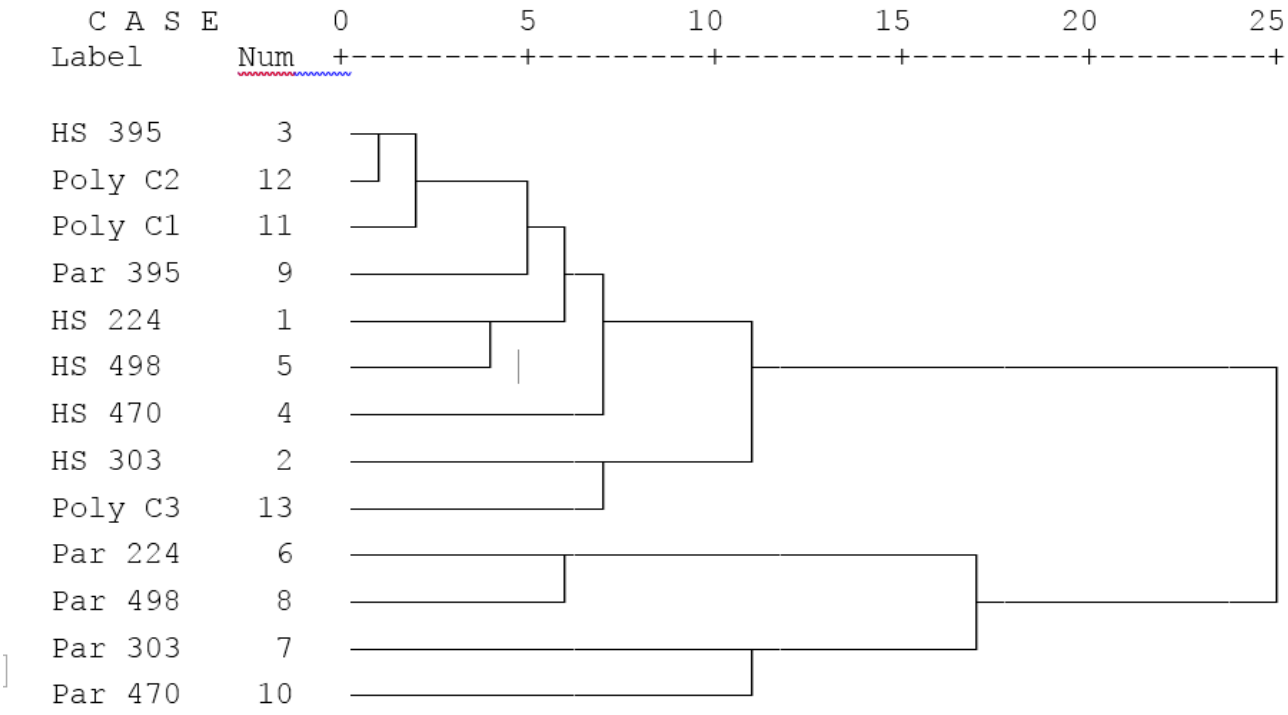
*: حساسیت به سفیدک (۰ ندارد ۵ متوسط ۹ خیلی زیاد)

پراکنش گونه‌ها در بای پلات حاصل از تجزیه به عامل‌ها برای دو عامل اول در شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل مشخص می‌شود که نسل‌های یک تا سه حاصل از کمپوزیت کراس (C1, C2 , C3) در منطقه ای بین جمعیت‌های والدینی (Par) و جمعیت‌های نیمه خواهری (HS) قرار دارند. باتوجه به اینکه در توجیه عامل اول وزن خشک گیاه و در عامل دوم طول گل آذین با علامت منفی بیشترین تاثیر را داشتند، لذا مقادیر بالای عامل اول نشان دهنده عملکرد بالای علوفه خشک و مقادیر بالای عامل دوم نشان دهنده تولید گل کمتر و در نهایت بذر کمتر در نمونه می‌باشد. با توجه به روش تحقیق و آزاد بودن گرده افشانی، عدم انتخاب برای هیچ صفت و برداشت یک بذر از هر گیاه، مشخص می‌شود که در مجموع تولید جمعیت‌های نیمه خواهری نسبت به والدین کمتر است. نسل اول تلاقی مرکب حاصل، تقریبا خصوصیاتی شبیه به نمونه‌های نیمه خواهری از جمله برای صفت وزن خشک نشان داده است. در صورتی که نسل‌های دوم و سوم مقداری از این نظر بهبود یافتند ولی هنوز از والدین Par 470 و Par 395 پایین‌تر هستند. نمونه Par 498 همراه با Par470 بیشترین مقدار را برای عامل یک داشتند. در صورتی که برای عامل دوم در نقطه کاملا متفاوت در مقابل یکدیگر هستند (شکل ۱).



شکل۱- پراکنش نمونه‌های موجود در تحقیق در بای پلات حاصل از دو عامل اول در تجزیه به عامل‌ها (Par= والدین، HS= نیمه خواهری، Poly C= تلاقی مرکب)

این موضوع در تجزیه خوشه ای هم دیده شد. بطوری که تمامی تلاقی‌های مرکب همراه با جمعیت‌های نیمه خواهری در خوشه اول ظاهر شدند. در صورتی که والدین به جز یکی (52TN00395) در خوشه دوم در کنار هم قرار گرفتند (شکل ۲). به عبارت دیگر این یافته نشان می‌دهد که تلاقی‌های موثری در بین والدین صورت گرفته بطوری که نتاج و یا نسل‌ها را از آنها دور نموده است.



شکل۲- پراکنش والدین (Par)، جمعیت‌های نیمه خواهری (HS) و نتاج سه نسل از تلاقی مرکب (Poly) در تجزیه خوش‌های به روش وارد

با توجه به این که مواد والدی از نظر مکانی از مناطق متنوعی جمع آوری شده بودند، لذا تنوع مناسب در صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در این نمونه‌ها را نیز می‌توان انتظار داشت. این مواد از نیمه شمالی کشور از فریدن در اصفهان تا زنجان، اهر، تبریز و خوی در آذربایجان از ارتفاع ۱۲۰۰ متری در خوی تا ۲۴۹۰ متر در فریدن جمع آوری شده بودند. نمونه‌های زنجان و تبریز اسپرس‌های خودرو در شرایط دیم و بقیه از مزارع کشاورز و در شرایط آبی جمع آوری شده بوند (۱). وجود درجات متفاوت حساسیت به سفیدک حقیقی برگ که در والدین وجود داشت، صفت مناسبی برای بررسی تلاقی‌های موفق است. همچنان که در بخش نتایج نشان داده شد، این صفت در برخی از والدین درجات بالایی از حساسیت و در برخی دیگر درجات پایین را نشان داد، با این وجود جمعیت بذری حاصل از تلاقی‌های چندگانه در نسل سوم تحمل مناسبی به این بیماری نشان داد. این صفت می‌تواند یکی از صفات متمایز کننده بین نمونه‌ها باشد. با توجه به انکه این صفت در والدین بروز خوبی در برخی نمونه‌ها نشان داد ولی در نمونه‌های تلاقی‌های مرکب به ویژه در نسل سوم شدت و ظهور آن بسیار کاهش یافت، می‌تواند یک نکته تایید کننده انجام تلاقی‌های موثر باشد. همچنان که نتایج در جدول ۱ نشان می‌دهد، میانگین شدت بروز این صفت در مجموع سه تکرار در والدین ۴۷۰ و ۳۰۳ به ترتیب ۸ و ۵ می‌باشد که این مقدار در تلاقی ترکیبی نسل سوم به ۰/۶۷ کاهش یافته است. زمانی که سه گروه والدی نیز با

یکدیگر مقایسه شدند گروه یک (جمعیت‌های والدی) بیشترین مقدار (۳/۷) از نمره حساسیت به سفیدک را نشان دادند، در صورتی که جمعیت تلاقی مرکب کمترین مقدار را داشت و جمعیت‌های نیمه خواهری در گروه وسط قرار گرفتند. این موضوع می‌تواند بر حرکت ژن‌های مرتبط با تحمل به سفیدک برگ از والدین به جمعیت حاصل از تلاقی‌های مرکب اشاره داشته باشد. قابل ذکر است در طی سه نسل تحمل به سفیدک در جمعیت مرجع دیده شد. چنین روندی برای صفات تعداد روز تاگلدهی و ارتفاع گیاه در گلدهی نیز مشاهده شد. در صورتی که در صفت عملکرد علوفه خشک تفاوتی بین نمونه‌های والدینی و جمعیت تولید شده دیده نشد که می‌تواند نکته مثبتی در نظر گرفته شود. با توجه به اینکه وجود تحمل به سفیدک در منابع ژنتیکی اسپرس ایران در تحقیقات متعددی به آن اشاره شده است (۲ و٤) و اینکه در آزمایشات مناطق مختلف و در سال‌های متمادی این صفت در جمعیت مورد بررسی بروز نموده است، لذا کنترل بیماری در اسپرس پایه ژنتیکی دارد، بنابراین نوع توارث و ژن‌های مرتبط با تحمل یا مقاومت در تحقیقات بعدی می‌تواند بررسی شود. با توجه به این که سایر ترکیبات ژنی در این جمعیت حضور دارند، لذا این جمعیت بعنوان مرجع میتواند در محیط‌های مختلف برای تولید کولتیوارهای مرتبط با آن محیط‌ها مورد استفاده قرار گیرد. تولید کولتیوارهای اسپرس حاصل از تلاقی‌های مرکب در برخی کشورها نیز انجام شده شده است. از جمله کولتیوار شوشون (Shoshone) که به نماتد ریشه *Meloidogyne hapla* متحمل است و حاصل از تلاقی ۱۷٦ بوته متحمل به نماتد می‌باشد (۵).

نتیجه گیری

تحقیق حاضر مواد مناسبی برای ادامه تحقیقات به‌نژادی اسپرس فراهم نمود. عملکرد علوفه در جمعیت مرجع حاصله در میانگین سه نسل ٤/۸۵ تن در هکتار بدست آمد. همچنین در صفت حساسیت به سفیدک برگ، بیشترین حساسیت در گروه والدی با نمره ۳/۷ و کمترین آن در جمعیت تلاقی مرکب با میانگین نمره ۱/۱ دیده شد که در سه نسل در جمعیت تولیدی تقریبا ثابت بود.

توصیه ترویجی

با استفاده از جمعیت تولید شده در محیط‌های مختلف می‌توان به اهداف به نژادی اسپرس که تولید علوفه همراه با تحمل به تنش‌های زیستی (سفیدک) و یا غیر زیستی همانند شوری و خشکی نایل گردید.

فهرست منابع:

۱- عباسی م.، ۱۳۸۷. گزارش نهایی پروژه " جمع آوری، شناسایی و ارزیابی ذخایر توارثی اسپرس به منظور حفاظت و استفاده ". موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، شماره فروست مرکز اطلاعات و مدارک علمی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ۸۷/۱۶۵۸.

۲- عباسی م.، ۱۳۹۱. تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم اسپرس ایران با تأکید بر صفات زراعی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۲۰: ۱۷۱-۱۶۰

3- Alizadeh, M. A., Jafari, A. A., Sepahvand, K., Davazdahemami, S., Moeini, M. R., Moaied, F. N., & Naseri, B. (2021). Evaluation of sainfoin accessions exposed to powdery mildew disease at four locations in Iran. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, *9*(1), 97-108.

4-Alizadeh, M.A. & Jafari, A.A., (2013) Evaluation of sainfoin populations in reaction to powdery mildew disease in different climatic conditions of Iran. *Forage Research*, *39*, pp.10-15.

5- Gray, F.A., Koch, D.W., Delaney, R.H. & Gray, A.M., (2006) Development and release of shoshone sainfoin (onobrychus viciifolia) with some tolerance to the northern root knot nematode. Phytopathology, 96(168).

6- Irani, S., M. M. Majidi and A. Mirlohi (2015). Half-sib matting and genetic analysis of agronomic, morphological, and physiological traits in sainfoin under non-stressed versus water-deficit conditions." Crop Science 55(1): 123-135.

7- Jafari AA, Rasoli M, Tabaei-Aghdaei SR, & Salehi P. (2014) Evaluation of herbage yield, agronomic traits and powdery mildew disease in 35 populations of sainfoin (*Onobrychis sativa*) across 5 environments of IRAN. Romanian Agricultural Research 31:41-8

8- Mohajer S, Jafari A, Taha R, & Ahmed ABA. (2012) Evaluation of yield and morphology traits in 72 genotypes of sainfoin through factor analysis. Legume research 35:132-7

9- Nguyen, H. & Sleper D. (1983). Theory and application of half-sib matings in forage grass breeding. Theoretical and applied genetics 64(3): 187-196.