DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2013.3096

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۱، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۰۲-۸۷ (۱۳۹۲)

بررسی خصوصیات فیزیولوژیک در پاسخ به تنش خشکی در چند رقم اسپرس زراعی (*Onobrychis viciifolia*)

امین ویسی پور[۱]، محمد مهدی مجیدی*[۲] و آقا فخر میرلوحی[۳]

۱- کارشناس‌ارشد، اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲*- نویسنده مسؤل مکاتبات، دانشیار، اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان، پست‌الکترونیک: majidi@cc.iut.ac.ir
۳- استاد، اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰٦/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰٤/۰٤

چکیده

این پژوهش با هدف مطالعه برخی صفات فیزیولوژیک ارقام اسپرس زراعی در شرایط کم آبیاری و شناسایی ارقام متحمل به خشکی انجام شد. تعداد ۱۰ رقم محلی اسپرس طی دو چین در قالب طرح کرت‌های خرد شده در زمان و در دو محیط رطوبتی عدم تنش و تنش خشکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری را بین ارقام اسپرس برای تمام صفات به غیر از نسبت کلروفیل (a/b) و کاروتنوئید نشان داد. البته عملکرد علوفه و سایر صفات (به غیر از محتوی پرولین) بطور قابل ملاحظه‌ای در اثر تنش کاهش یافتند. در شرایط عدم تنش ارقام فریدون‌شهر۲ و خوانسار۲ و در شرایط تنش ارقام اصفهان، فریدون‌شهر۲ و کرمان از عملکرد علوفه بیشتری برخوردار بودند. تنش خشکی باعث افزایش مقدار پرولین برگ گردید، به‌طوری‌که میانگین مقدار پرولین برگ در شرایط تنش افزایش بیش از ٦۰۰ درصدی را نشان داد. درصد آب نسبی برگ و محتوای کلروفیل به‌ترتیب کاهش ۲۸ و ١٤ درصدی را در شرایط تنش خشکی نشان دادند. به‌نحوی‌که نتایج تجزیه خوشه‌ای در هر دو شرایط رطوبتی ارقام اسپرس را به سه گروه تفکیک نمود که در شرایط تنش گروه‌های مقاوم، نیمه مقاوم و حساس نامگذاری شدند. البته، ارقام مقاوم برای استفاده در مطالعات بعدی شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: خشکی، اسپرس، پرولین، کلروفیل، تجزیه خوشه‌ای.

مقدمه

اسپرس زراعی با نام علمی *Onobrychis viciifolia* Scopدر طول قرن‌ها در مناطق مختلف جهان و ازجمله ایران کشت گردیده است و کشاورزان برای تعلیف دام‌های خود از آن استفاده کرده‌اند. این گیاه نه تنها در کشت زراعی به دلیل تولید مناسب و کیفیت عالی حائز اهمیت است بلکه بمنظور احیاء مراتع و تبدیل دیم‌زارهای کم بازده و رهاشده به علوفه‌کاری دیم نیز استفاده می‌شود (Gerami, 1990). این گیاه تحمل بالایی به تنش‌های غیر زیستی به‌ویژه خشکی دارد و از این رو می‌تواند برای تولید علوفه در مناطق خشک مورد استفاده قرار گیرد (Dadkhah *et al*, 2011). تنوع موجود در ارقام داخلی کشور از نظر تحمل به خشکی می‌تواند ناشی از واکنش مختلف ارقام از نظر خصوصییات فیزیولوژیک باشد.

پرولین احتمالاً رایج‌ترین و گسترده‌ترین اسمولیتی است که در بسیاری از گیاهان به‌عنوان پاسخ طبیعی و ذاتی گیاه به تنش‌های اسمزی و خشکی تولید می‌شود (Miller *et al*, 2005). برای تجمع پرولین در گیاه در هنگام تنش خشکی دلایل مختلفی ارائه شده است. برخی آن را به علت اثر تنظیمی ABA بر فرایندهای نوری در متابولیسم پرولین می‌دانند (Serraj & Sinclair, 2002). برخی محققان تجمع پرولین را به وجود ترکیبات پر انرژی حاصل از فتوسنتز ربط می‌دهند که سبب تحریک سنتز پرولین می‌شود (Staden *et al*, 1999; Zhang *et al*, 1999). در گونه‌ای از یونجه کاهش رطوبت خاک تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه تأثیر معنی‌داری روی میزان رطوبت نسبی برگ و کلروفیل نداشت (Nunes *et al*, 2008). در تحقیقی Akhondi و همکاران (۲۰۰۶) با مطالعه تجمع پرولین در سه ژنوتیپ یونجه در محیط هیدروپونیک اعلام کردند، با افزایش خشکی بر میزان تجمع پرولین در اندام‌های مختلف افزوده می‌شود، ولی میزان افزایش پرولین در برگ‌ها نسبت به سایر اندام‌های گیاه بیشتر است. در مطالعه‌ای Maghsoudi و Lordan (۲۰۰۶) در یونجه تحت شرایط تنش ملایم خشکی گزارش کردند که ارقام دارای کارآیی تعرق بالا محتوی نسبی آب بالاتری دارند. همچنین Ghorbani و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی نقش برخی متابولیت‌ها در سازوکار تنظیم اسمزی در یونجه یکساله برگ بریده در شرایط تنش خشکی افزایش تجمع پرولین و کاهش رطوبت نسبی برگ را گزارش کردند. خشکسالی و کم آبی بزرگترین تنش محیطی است که کشور ما به‌ویژه در سال-های اخیر با آن روبرو می‌باشد. در این شرایط بخش زیادی از علوفه دامی مورد نیاز در کشور از طریق واردات تأمین می‌گردد. در این راستا شناخت گیاهان علوفه‌ای بومی نظیر اسپرس که در شرایط آب‌وهوایی خشک از قابلیت بالای تولید برخوردارند و اصلاح آنها در جهت افزایش تولید در شرایط کم آبی می‌تواند گام مؤثری در جهت تأمین نیاز علوفه کشور باشد. بر این اساس این پژوهش به‌منظور بررسی واکنش توده‌های اسپرس به تنش خشکی از نظر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف‌آباد اجرا گردید. ارتفاع مزرعه از سطح دریا ۱۶۳۰ متر و میانگین بارندگی و دمای سالیانه به‌ترتیب ۱۴۰ میلی‌متر و ۱۴/۵ درجه سانتی‌گراد بود (Karimi, 1997). ظرفیت زراعی و پژمردگی خاک به‌ترتیب ۲۳ و ۱۰ درصد وزنی می‌باشند. بافت خاک منطقه لورک، لوم رسی با جرم مخصوص ظاهری ۱/۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب بوده و متوسط pH آن حدود ۷/۵ می‌باشد.

مواد ژنتیکی مورد استفاده در این آزمایش تعداد ۱۰ رقم اسپرس بومی شامل توده‌های محلی جمع‌آوری شده از شهرستان‌های اراک، نجف‌آباد، آقاداش (سمیرم)، سنندج، فریدون‌شهر، خرم‌آباد، اصفهان، خوانسار، بافت و کرمان بودند که در دو محیط رطوبتی عدم تنش و تنش خشکی (به شرح زیر) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار کشت شدند. کرت‌های آزمایشی شامل چهار ردیف ۵ متری با فاصله بوته روی ردیف ۱۰ سانتی-متر و فاصله ردیف ۴۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شده بود.

به‌منظور تأمین فسفر و نیتروژن مورد نیاز گیاه کود فسفات آمونیوم به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کاشت به خاک اضافه شد و برای تکمیل نیتروژن مورد نیاز گیاه نیز کود اوره به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در هر چین به زمین اضافه گردید. کنترل علف‌های هرز نیز به صورت دستی انجام شد.

محیط‌های رطوبتی شامل محیط بدون تنش رطوبتی با اعمال ضریب MAD (Management allowed depletion) (متوسط کسری از کل آب در دسترس که می‌تواند از عمق توسعه ریشه تخلیه شود بدون اینکه به گیاه تنشی وارد شود) برابر با ۵۵ درصد و محیط تنش رطوبتی با اعمال ضریب MAD برابر با ۸۵ درصد بود. مقدار تخلیه رطوبت از خاک براساس مقدار تبخیر- تعرق چمن با استفاده از رابطه فائو-پنمن- مانتیث (FAO PenmanMonteith equation) (Allen *et al*, 1998) و ضریب گیاهی اسپرس طی دوره رشد (Allen *et al*, 1998) محاسبه شد. عمق آب آبیاری با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$Id = (FC - PWP) \times D \times 0.5$$

در این رابطه، I_d عمق آب آبیاری (سانتی‌متر)، FC رطوبت حجمی خاک در حد ظرفیت زراعی (درصد)، PWP رطوبت حجمی خاک در حد پژمردگی دائم (درصد)، D عمق فعال توسعه ریشه (سانتی‌متر) که در این پژوهش ۶۰ سانتی‌متر بود. برای اندازه‌گیری میزان آب ورودی به کرت‌ها از فلوم شماره ٤ استفاده گردید.

به‌منظور اندازه‌گیری صفات در هر کرت آزمایشی، ۵۰ سانتی‌متر از ابتدا و انتهای ردیف‌ها به‌عنوان حاشیه در نظر گرفته شد. عملکرد علوفه به همراه صفات فیزیولوژیک طی دو چین مورد بررسی قرار گرفت. میزان آب نسبی برگ (RWC= Relative water content)، براساس فرمول زیر محاسبه گردید که در آن W_f وزن تر نمونه برگی، W_d وزن خشک نمونه برگی و W_t وزن تورژسانس نمونه برگی می‌باشد:

$$RWC\ (\%) = ((Wf\ \ Wd)/(Wt\ \ Wd)) \times 100$$

برای استخراج اسید آمینه پرولین از بافت‌های برگ از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) با استفاده از معرف ناین هیدرین و برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler و Buschman (۲۰۰۱) استفاده شد. تجزیه آماری برای صفاتی که در چین‌های مختلف اندازه‌گیری شده بودند، به صورت تجزیه مرکب طرح کرت‌های خرد شده در زمان انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) برای عوامل اصلی و اثرات متقابل معنی‌دار بین آنها انجام گردید. به‌منظور گروه‌بندی ارقام از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر مبنای ماتریس فاصله اقلیدسی به عنوان معیار فاصله استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری به کمک نرم‌افزار SAS و NCSS و برای داده‌پردازی، ترسیم نمودارها و جدولها به کمک نرم‌افزار Excel انجام گردید. مقدار درصد کاهش برای هر صفت در شرایط تنش نسبت به عدم تنش با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%Reduction = ((Yp - Ys)/Yp) * 100$$

در این فرمول Yp و Ys به ترتیب مقادیر صفات برای ژنوتیپ‌ها در شرایط عدم تنش و تنش رطوبتی است.

نتایج

عملکرد علوفه خشک، میزان آب نسبی برگ و محتوای پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ارقام برای تمام صفات به غیر از نسبت کلروفیل (a/b) و کاروتنوئید اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). به‌طوری‌که میانگین عملکرد علوفه ارقام اسپرس در شرایط تنش خشکی ۲۵ درصد کاهش نشان داد (جدول ۲). در شرایط عدم تنش ارقام فریدون‌شهر و خوانسار بیشترین (به‌ترتیب ۳۷ و ۳٤ تن در هکتار) و توده آقاداش (سمیرم) کمترین (۱۵ تن در هکتار) عملکرد علوفه خشک را داشتند. در شرایط تنش ارقام اصفهان، فریدون‌شهر و کرمان بیشترین (به‌ترتیب ۲٦، ۲۳ و ۲۳ تن در هکتار) و ارقام آقاداش (سمیرم) و اراک کمترین (به‌ترتیب ۱۳ و ۱۱ تن در هکتار) تولید را داشتند.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برای صفات فیزیولوژیک در ارقام اسپرس تحت شرایط تنش و عدم تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		عملکرد علوفه خشک	میزان آب نسبی برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نسبت کلروفیل(a/b)	کاروتنوئید	پرولین
محیط	۱	۱۳٥٤۰۰/۲٦**	۱٤٦٥۸/۰٥**	۳/۱٥٥*	۱/۲۹۳**	۸/٤۸۸**	۲/٥۸۹^{ns}	۰/٦۰۹**	۱٥۷۹۹/۹۸**
خطای a	٤	۹٥۱/٤٥	۱۲/٥۳	۰/۱٥۸	۰/۰٥۸	۰/۲۳۲	۰/٦۲۲	۰/۰۲٤	۲/٦۹
رقم	۹	۲٦٥۷۸/۱۸**	۱۸۳/٥**	۰/۱۱۲*	۰/۰٤٤*	۰/۲٥۰**	۰/۲۲۱^{ns}	۰/۰۰۷^{ns}	٥٤/۳۸**
رقم*محیط	۹	۷٥۰۱/۳۲**	۳٤/۱۸^{ns}	۰/۰٥۱^{ns}	۰/۰۱۸^{ns}	۰/۰۲۳^{ns}	۰/۳٥٦^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	٤۸/۰۱**
خطای b	۳٦	۷۲۲/۹۷	۱۸/٥۹	۰/۰٥۰	۰/۰۱٦	۰/۰۷۹	۰/۲۰۸	۰/۰۰٦	٦/۸۳
چین	۱	٥۸۸٤/۱*	۸/۸۷^{ns}	۰/۷۲٥**	۰/۰۰٥^{ns}	۰/۸٥**	۰/۱٥۸^{ns}	۰/۰۷۸**	٤٥/۳۹**
چین* محیط	۱	۳٥۳۳/۹۷*	٦۹/٦۲^{ns}	۰/۰۲۳^{ns}	۰/۲۹۳**	۰/۱٥۳^{ns}	۳/۸٥۷**	۰/۱۱۱**	٥۱/۰٤**
چین*رقم	۹	۷۹۳۳/۱۷**	۲٥/۸۱^{ns}	۰/۱۲۷^{ns}	۰/۰۱٦^{ns}	۰/۱۹۹^{ns}	۰/۰۹۲^{ns}	۰/۰۱۳^{ns}	۱۷/۱٥**
چین*رقم* محیط	۹	۲۰۱۷/۷*	۱۲/۱۳^{ns}	۰/۰۷۱^{ns}	۰/۰۰۹^{ns}	۰/۰٤٦^{ns}	۰/۲٥٤^{ns}	۰/۰۰٥^{ns}	۱۷/۸۸**
خطا	٤۰	۸٤۷/۲٤	۲۳/۳۹	۰/۰۸۱	۰/۰۲٤	۰/۱۱۳	۰/۳۲٥	۰/۰۰۷	٤/۰٤
ضریب تغییرات (٪)		۱٥/٥	۷/۲۱	۱۰/۷٥	۱٦/۷٥	۹/٤۲	۱۹/۱۷	۱۱/۲۹	۱۳/۲۹

^{ns}، * و ** به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطوح احتمالات ۵ و ۱ درصد

مقایسه میانگین ارقام به تفکیک عدم تنش و تنش از نظر عملکرد علوفه خشک در چین‌های مختلف در جدول ۳ آمده است. در چین اول کاهش ۲۱ درصدی و در چین دوم کاهش ۲۹ درصدی در شرایط تنش مشاهده شد (جدول ۳). در شرایط عدم تنش چین اول رقم خوانسار بیشترین تولید را داشت اما در چین دوم رقم فریدون‌شهر دارای بیشترین مقدار بود. کمترین مقدار عملکرد برای رقم آقاداش(سمیرم) در هر دو چین مشاهده گردید. در شرایط تنش

رقم اصفهان در چین اول و رقم کرمان در چین دوم بیشترین مقدار و رقم اراک در هر دو چین کمترین مقدار را داشتند (جدول ۳). درصد آب نسبی برگ کاهش ۲۸ درصدی را در شرایط تنش خشکی نشان داد. اما در شرایط نرمال رطوبتی ارقام فریدون‌شهر و اصفهان بیشترین مقدار و ارقام آقاداش (سمیرم) و سنندج کمترین مقدار را از نظر این صفت داشتند. در شرایط تنش نیز فریدون‌شهر بیشترین و اراک و آقاداش (سمیرم) دارای کمترین میزان بودند (جدول ۲).

تنش خشکی باعث افزایش مقدار پرولین برگ گردید، به‌طوری‌که میانگین مقدار پرولین برگ در شرایط تنش افزایش بیش از ۶۰۰ درصدی را نشان داد (جدول ۲). در شرایط عدم تنش رقم خوانسار با ٤/٤١ میکرومول بیشترین مقدار و رقم کرمان با ۲/۹٤ میکرومول کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. در شرایط تنش رقم خوانسار و سنندج به‌ترتیب با ۳۳/۰۳ و ۲۱/۷٦ بیشترین و کمترین مقدار را برای پرولین برگ به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین ارقام در دو محیط رطوبتی و اثر متقابل آنها برای صفات عملکرد علوفه خشک، میزان آب نسبی برگ و پرولین

رقم	عملکرد علوفه خشک (تن در هکتار)		درصد کاهش	میزان آب نسبی برگ		درصد کاهش	پرولین (µmoles/g)		درصد کاهش
	عدم تنش	تنش		عدم تنش	تنش		عدم تنش	تنش	
اراک	۲۳/٤٥^{cd}	۱۱/۷۹^{d}	٤۹/٦۹	۷۳/۲۲^{cd}	۵۱/۷٤^{d}	۳۰/۲۸	۳/۲٦$^{c-e}$	۲۲/۸٤^{c}	-٦۰۱/۲۳
نجف‌آباد	۲۳/۷۵^{cd}	۲۲^{bc}	۷/۳٦	۷٦/۱$^{b-d}$	۵۳/۸٦^{cd}	۲۹/۲۲	٤/۱٤^{ab}	۲٤/۸۵^{bc}	-۵۰۰/٤٦
آقاداش (سمیرم)	۱۵/٤۱^{e}	۱۳/٦۰^{d}	۱۱/۷۳	۷۱/۲٤^{d}	۵۱/۲٤^{d}	۲۸/۰۷	۳/۹٦^{ab}	۲۸/٦۸^{ab}	-٦۲٤/۸۹
سنندج	۲۱/۳۱^{d}	۱۹/٦۵^{c}	۷/۷۱	۷۳/٦٦^{d}	۵٤/۷٦^{cd}	۲۵/٦۵	٤/۲۳^{ab}	۲۱۷٦^{c}	-٤۱٤/۳۵
فریدون‌شهر	۳۷/۵٤^{a}	۲۳/۹۲^{ab}	۳۳/۰۹	۸٤/۸۱^{a}	٦۳/۹۲^{a}	۲٤/٦٤	۳/۱۷^{de}	۲۳/۳٦^{c}	-٦۳٦/۱۱
خرم‌آباد	۲۸/۵۸^{b}	۱۹/۳٤^{c}	۳۲/۳۳	۷۹/۲۸^{b}	۵۸/۱۵^{bc}	۲٦/٦۵	۳/۵۷$^{b-e}$	۲٤/۱۸^{c}	-۵۷۸/۳۳
اصفهان	۲۹/۰۹^{b}	۲٦/۱۳^{a}	۱۰/۱٦	۸٤/۵۸^{a}	۵۵/۸۹$^{b-d}$	۳۳/۹۲	۳/۰۷^{e}	۳۱/۲۸^{a}	-۹۲۰/٤۸
خوانسار	۳٤/٤۸^{a}	۲۰/۱۹^{c}	٤۱/٤۲	۸۰/۵۵^{ab}	۵۳/۲۹^{cd}	۳۳/۸۵	٤/٤۱^{a}	۳۳/۰۳^{a}	-٦٤۸/۲۱
بافت	۲۷/۹٦^{b}	۱۸/۷۰^{c}	۳۳/۱۲	۷۸/۷٦^{bc}	۵۷/٦۲^{c}	۲٦/۸٤	۳/۸۷$^{a-d}$	۳۱/٤^{a}	-۷۱۰/٦٦
کرمان	۲٦/۵۸^{bc}	۲۳/۸۲^{ab}	۱۰/۳۵	۷۸/۹۲^{bc}	٦۰/٦۱^{ab}	۲۳/۲۱	۲/۹٤^{e}	۲٤/۷۲^{bc}	-۷٤۰/٦۷
میانگین	۲٦/۵۸^{A}	۱۹/۹۱^{B}	۲۵/۲۲	۷۸/۲۱^{A}	۵٦/۱۱^{B}	۲۸/۲٦	۳/٦٦^{B}	۲٦/٦۱^{A}	-٦۳۷/۵٤
LSD (٪۵)	۳/۱۹	۳/۳۲		۵/۰۳	۵/٤۲		۰/۷٦	٤/٤۲	
LSD (٪۵) اثرات متقابل		٤/٦۵			۵/۲۳			۳/۰۱	

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵٪ می‌باشند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و محیط رطوبتی به تفکیک چین‌ها برای عملکرد علوفه خشک (کیلوگرم در متر مربع)

ژنوتیپ (توده)	چین ۱		درصد کاهش	چین ۲		درصد کاهش
	عدم تنش	تنش		عدم تنش	تنش	
اراک	۲۳۷/۱۳^{de}	۱٤۰/۵۱^{e}	٤۰/۷۵	۲۳۱/۹۳^{d}	۹۵/٤٦^{e}	۵۸/۸٤
نجف‌آباد	۲۵۰/۵۸^{d}	۲۳۸/٦۳^{ab}	٦/۷۷	۲۲٤/٤۲^{d}	۲۰۱/۳۸^{bc}	۱۰/۲٦
آقاداش (سمیرم)	۱۸٤/۵٤^{g}	۱۵۹/۸۵^{de}	۱۳/۳۸	۱۲۳/۷^{e}	۱۱۲/۲٤^{de}	۹/۲٦
سنندج	۱۹٦/۹^{fg}	۱۸۷/۸۱$^{c-e}$	۷/٦۱	۲۲۹/۱۱^{d}	۲۰۵/۳٤^{b}	۱۰/۳۸
فریدون‌شهر	۳٤٦/۹۸^{ab}	۲٦۸/۲۲^{ab}	۲۲/۷	۳٦۷/۹۹^{a}	۲۱۰/۱۹^{b}	٤۲/۸۸
خرم‌آباد	۲۱۵/۸۹^{de}	۱۹۱/۹^{cd}	۱۱/۱۱	۳۵۵/۸۳^{ab}	۱۹٤/۹٤^{bc}	٤۵/۲۲
اصفهان	۳۲۰/۹٦^{c}	۲۸٤/٤۸^{a}	۱۱/۳۷	۲٦۰/۸۸^{cd}	۲۳۸/۲٦^{ab}	۸/٦۷
خوانسار	۳۷۲/٦٦^{a}	۲۱۲/۵۱^{c}	٤۲/۹۷	۳۱٦/۹۹$^{a-c}$	۱۹۱/٤۵^{bc}	۳۹/٦
بافت	۳۲٤/۱۱^{bc}	۲۲۳/۳٦^{bc}	۳۱/۰۹	۲۳۵/۱۹^{d}	۱۵۰/٦۸^{cd}	۳۵/۹۳
کرمان	۲۲۹/۷۱^{de}	۲۰۸/۹۲^{cd}	۹/۰۵	۳۰۱/۹۱^{bc}	۲٦۷/٦۷^{a}	۱۱/۳٤
میانگین	۲٦۷/۹۵^{A}	۲۱۱/٦۲^{B}	۲۱/۰۲	۲٦٤/۷۹^{A}	۱۸٦/۷٦^{B}	۲۹/٤۷
LSD (٪۵)	۲۵/۸٤	۵۱/۰٦		۵۷/۰٦	۵۳/۲۸	
LSD (٪۵) اثر متقابل	۳۹/۳۳			۵۳/۰٤		

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵٪ می‌باشند.

میانگین ارقام در شرایط تنش چین اول افزایش ٦۰۰ درصدی را نشان می‌دهد (جدول ٤). در شرایط عدم تنش چین اول رقم نجف‌آباد با ٤/٦ میکرومول در گرم بیشترین مقدار پرولین و اصفهان با ۲/۹ کمترین مقدار را داشت. در شرایط تنش چین اول رقم خوانسار۲ و اراک به‌ترتیب با ۳۲/۳۱ و ۱۹/۵٦ بیشترین و کمترین مقدار را داشتند. در شرایط تنش مقدار پرولین افزایش داشت که این افزایش در چین دوم ٦۷۹/۰٦ درصد بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در شرایط عدم تنش چین دوم رقم خوانسار با ٤/٤۱ بیشترین مقدار و رقم کرمان با ۲/۸٦ میکرومول در گرم کمترین مقدار را داشت. در شرایط تنش چین دوم رقم خوانسار با ۳۷/۲۳ بیشترین، و رقم سنندج با ۲۰/۷۷ میکرومول بر گرم کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ٤).

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و محیط رطوبتی به تفکیک چین‌ها برای پرولین برگ (µmol/g)

رقم	چین ۱		درصد کاهش	چین ۲		درصد کاهش
	عدم تنش	تنش		عدم تنش	تنش	
اراک	۳^{cd}	۱۹/۵٦^{c}	-٥٥۲/۱٥	۳/٥۱$^{a-c}$	۲٦/۱۲^{cd}	-٦٤۳/۱۳
نجف‌آباد	٤/٦^{a}	۲۱/۰۲^{c}	-۳٥۷/۳٥	۳/٦۸$^{a-c}$	۲۸/٦۸^{bc}	-٦۷۹/۱۹
آقاداش (سمیرم)	٤/۲۳$^{a-c}$	۲۹/۷٦^{ab}	-٦۰۳/۲٥	۳/٦۸$^{a-c}$	۲۷/٦^{cd}	-٦٤۹/۷۷
سنندج	٤/۱$^{a-d}$	۲۲/۷٥^{c}	-٤٥٥/۲۲	٤/۳٦^{ab}	۲۰/۷۷^{e}	-۳۷٥/۹٥
فریدون‌شهر	۳/۲٦$^{b-d}$	۲۲/٦٤^{c}	-٥۹۳/۱٦	۳/۰۸^{c}	۲٤/۰۸$^{c-e}$	-٦۸۱/٦۲
خرم‌آباد	۳/٥۱$^{a-d}$	۲٥/٦٦^{bc}	-٦۲۹/۹٦	۳/٦۱$^{a-c}$	۲۲/۷^{de}	-٥۲۸/۱۱
اصفهان	۲/۹^{d}	۲۹/٤۳^{ab}	-۹۱٥/۱٥	۳/۲۳^{bc}	۳۳/۱۳^{ab}	-۹۲٥/۲٦
خوانسار	٤/٤۱^{ab}	۳۲/۳۱^{a}	-٦۳۱/۹	٤/٤۱^{a}	۳۳/۷٥^{a}	-٦٦٤/٥۳
بافت	۳/۹٥$^{a-d}$	۲٥/٥۷^{bc}	-٥٤۷/٥٤	۳/۸$^{a-c}$	۳۷/۲۳^{a}	-۸۸۰/۲٦
کرمان	۳/۰۲^{cd}	۲٤/۷۲^{bc}	-۷۱۹/٦٥	۲/۸٦^{c}	۲٤/۷۲$^{c-e}$	-۷٦۲/۷۹
میانگین	۳/۷^{B}	۲٥/۳٤^{A}	-٦۰۰/٥۳	۳/٦۲^{B}	۲۷/۸۸^{A}	-٦۷۹/۰٦
LSD (٪٥)	۱/۲٤	٦/۱۷		۱/۱٥	٥/۰۱	
LSD (٪٥) اثر متقابل	٤/۱۸			۳/٤۹		

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ٥٪ می‌باشند.

کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید

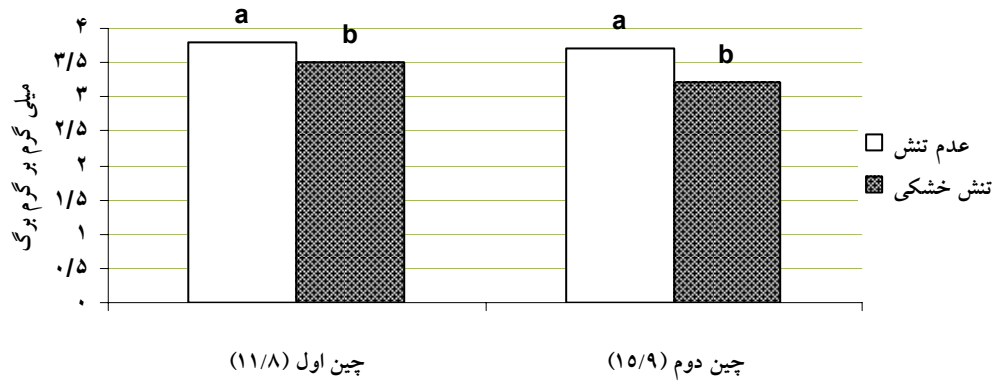
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ارقام برای کلروفیل a اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). کاهش ۱۱/٥ درصدی برای کلروفیل a در شرایط تنش رطوبتی مشاهده گردید (جدول ٥). در شرایط عدم تنش رقم آقاداش (سمیرم) و رقم اصفهان به‌ترتیب با ۲/۹۷ و ۲/٦۸ میلی‌گرم در گرم برگ، بیشترین و کمترین مقدار را داشتند. در شرایط تنش رقم فریدون-شهر با ۲/۷۱ میلی‌گرم بیشترین مقدار کلروفیل a را به خود اختصاص داد. درحالی‌که رقم کرمان با ۲/۲۱ میلی‌گرم کمترین مقدار را به خود اختصاص داد. کلروفیل b نیز کاهش ۱۹/۸۸ درصدی را در شرایط تنش نشان داد. برای این صفت در شرایط عدم تنش رقم اصفهان و رقم اراک به‌ترتیب با ۱/۱٥ و ۰/۸۸ بیشترین و کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. در شرایط تنش رقم آقاداش (سمیرم) و اراک به‌ترتیب با ۰/۸۸ و ۰/۷٤ بیشترین و کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ٥). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ارقام برای کلروفیل کل در سطح ۱ درصد اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). میانگین ارقام در شرایط عدم تنش و تنش به‌ترتیب ۳/۸٤ و ۳/۳۱ بود. درصد کاهش میانگین صفت برای کلروفیل کل ۱۳/۸۹ درصد بود (جدول ٥). در شرایط عدم تنش رقم فریدون‌شهر با ٤/۰۳ بیشترین مقدار و

رقم اراک با ۳/٦٦ کمترین مقدار کلروفیل را به خود اختصاص دادند. در شرایط تنش رقم فریدون‌شهر و کرمان به‌ترتیب با ۳/۵۸ و ۲/۹۸ بیشترین و کمترین مقدار را برای کلروفیل کل نشان دادند (جدول ۵). میزان کلروفیل کل برای دو چین دارای تفاوت معنی-داری بود و چین دوم دارای مقدار کلروفیل بیشتری بود که این افزایش می‌تواند به دلیل افزایش در مقدار کلروفیل b باشد. کاهش کلروفیل در شرایط تنش چین اول و دوم به‌ترتیب برابر ۱۱/۸٤ و ۱۵/۹ درصد بود (شکل ۱). برای محتوای کاروتنوئید بین چین‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). میزان کاروتنوئید در چین دوم دارای مقدار بیشتری نسبت به چین اول است و در شرایط تنش هر چین، مقدار کاروتنوئید کاهش یافته است که این کاهش در چین اول ۱۰/۰۱ درصد و در چین دوم ۲٤/٦ درصد بود (شکل ۲).

جدول ۵- مقایسه میانگین ارقام در محیط‌های رطوبتی و اثر متقابل آنها برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل

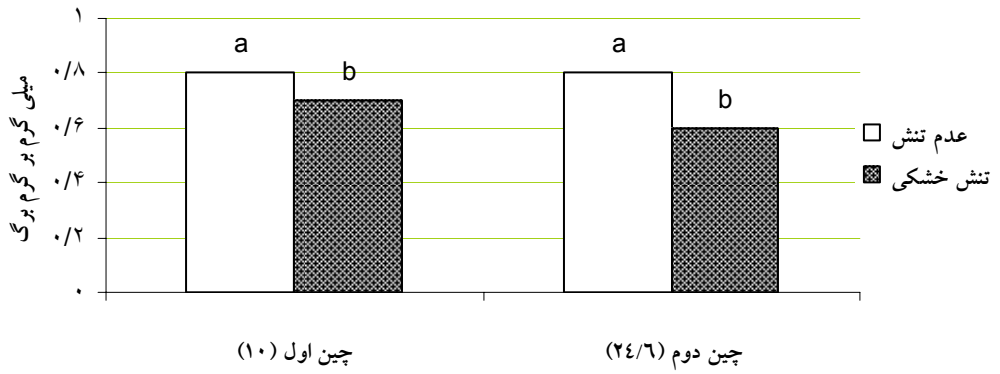
ارقام	کلروفیل a (mg/g Leaf)		درصد کاهش	کلروفیل b (mg/g Leaf)		درصد کاهش	کلروفیل کل (mg/g Leaf)		درصد کاهش
	عدم تنش	تنش		عدم تنش	تنش		عدم تنش	تنش	
اراک	$۲/۷۸^{ab}$	$۲/۳۲^{bc}$	۱٦/۲٦	$۰/۸۸^{e}$	$۰/۷۵^{b}$	۱۵/٦۱	$۳/٦۳^{a}$	$۳/۰۷^{cd}$	۱٦/۱
نجف‌آباد	$۲/۸^{ab}$	$۲/٤٦^{a-c}$	۱۱/۸۹	$۰/۹۲^{de}$	$۰/۷۸^{ab}$	۱۵/۸۲	$۳/۷۲^{a}$	$۳/۲٤^{b-d}$	۱۲/۸۷
آقاداش (سمیرم)	$۲/۹۷^{a}$	$۲/۵۳^{ab}$	۱٤/۸۳	$۰/۹۸^{b-e}$	$۰/۸۸^{a}$	۹/۸۵	$۳/۹٤^{a}$	$۳/٤۲^{ab}$	۱۳/٦
سنندج	$۲/۸۵^{ab}$	$۲/٦۱^{a}$	۸/۲۹	$۱/۰٦^{a-d}$	$۰/۸٤^{ab}$	۲۱/۱٦	$۳/۹۱^{a}$	$۳/٤۵^{ab}$	۱۱/۷۸
فریدون‌شهر	$۲/۸۹^{ab}$	$۲/۷۱^{a}$	٦/۲۱	$۱/۱٤^{ab}$	$۰/۸۷^{ab}$	۲۳/۲۱	$٤/۰۳^{a}$	$۳/۵۹^{a}$	۱۱/۰۳
خرم‌آباد	$۲/۸۷^{ab}$	$۲/۵۷^{ab}$	۱۰/٤۱	$۱/۰۱^{a-e}$	$۰/۸۳^{ab}$	۱۸/۱۱	$۳/۸۸^{a}$	$۳/٤^{ab}$	۱۲/٤۱
اصفهان	$۲/٦۸^{b}$	$۲/۵۲^{ab}$	۵/۹۱	$۱/۱۵^{a}$	$۰/۷۸^{ab}$	۳۲/۲۵	$۳/۸۳^{a}$	$۳/۳^{a-c}$	۱۳/۸۲
خوانسار	$۲/۸۳^{ab}$	$۲/٤٤^{a-c}$	۱۳/۹	$۱/۰۵^{a-d}$	$۰/۸۵^{ab}$	۱۹/٤۵	$۳/۸۹^{a}$	$۳/۲۹^{a-c}$	۱۵/٤
بافت	$۲/۷٦^{ab}$	$۲/۵۵^{ab}$	۷/۵٤	$۱/۰۹^{a-c}$	$۰/۸۳^{ab}$	۲۰/۰۵	$۳/۸۵^{a}$	$۳/۳۸^{ab}$	۱۲/۲۲
کرمان	$۲/۷۵^{ab}$	$۲/۲۱^{c}$	۱۹/۷۷	$۰/۹٦^{c-e}$	$۰/۷۷^{ab}$	۱۹/۲٦	$۳/٦۸^{a}$	$۲/۹۸^{d}$	۱۹/٦٤
میانگین	$۲/۸۲^{A}$	$۲/٤۹^{B}$	۱۱/۵	$۱/۰۳^{A}$	$۰/۸۲^{B}$	۱۹/۸۸	$۳/۸٤^{A}$	$۳/۳۱^{B}$	۱۳/۸۹
LSD (٪۵)	۰/۲٦	۰/۲۸		۰/۱۷	۰/۱۳		۰/۳۷	۰/۳	

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵٪ می‌باشند.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل چین و محیط رطوبتی برای کلروفیل کل

(اعداد داخل پرانتز برای هر چین درصد کاهش صفت از تنش به عدم تنش می‌باشد) میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵٪ می‌باشند.

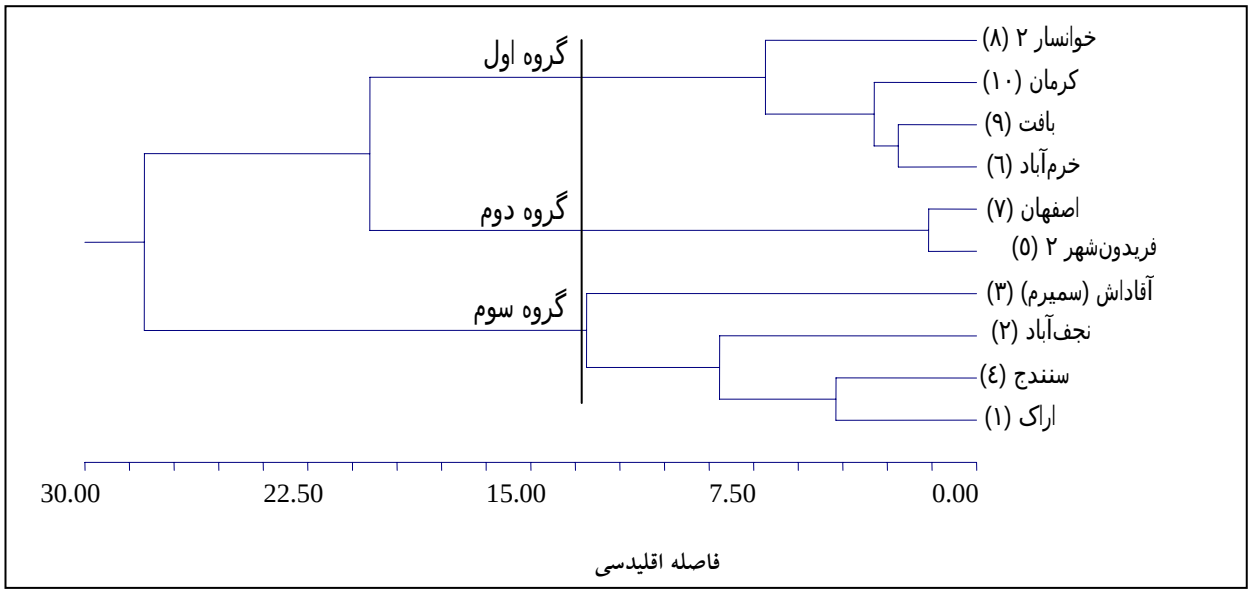


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل چین و محیط رطوبتی برای صفت کاروتنوئید

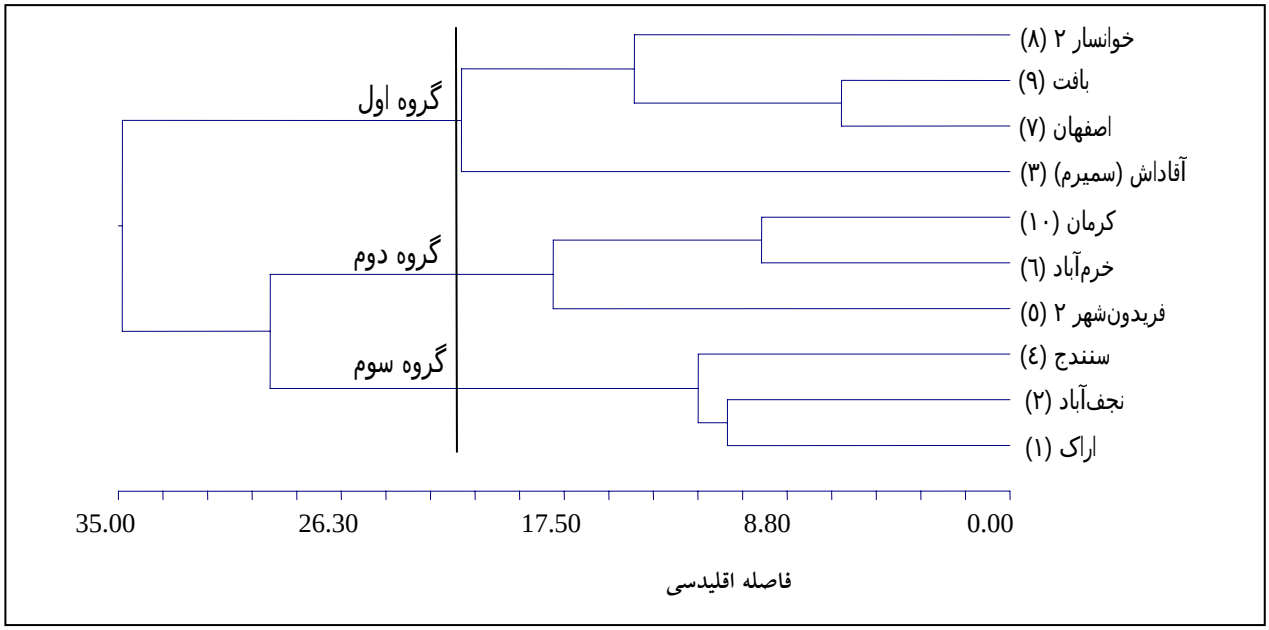
(اعداد داخل پرانتز برای هر چین درصد کاهش صفت از تنش به عدم تنش می‌باشد) میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵٪ می‌باشند.

گروه‌بندی ارقام براساس صفات فیزیولوژیک

در شرایط نرمال رطوبتی ارقام اسپرس در فاصله اقلیدسی ۱۳/۵ به سه گروه تفکیک شدند (شکل ۳). در گروه اول ارقام شماره ٦، ۸، ۹ و ۱۰ قرار گرفتند. ارقام این گروه برای صفات درصد رطوبت نسبی برگ، کلروفیل b و نسبت کلروفیل (a/b) دارای مقدار متوسطی بودند (جدول‌های ۲ و ۵). گروه دوم شامل ارقام شماره ۵ و ۷ بودند. در این گروه ارقام دارای رطوبت نسبی برگ و کلروفیل b بالا و نسبت کلروفیل (a/b) کمتر قرار داشتند (جدولهای ۲ و ۵). در گروه سوم ارقام شماره ۱، ۲، ۳ و ٤ جای گرفتند که دارای مقدار کمتری برای درصد رطوبت نسبی برگ و کلروفیل b بوده و دارای مقدار بالاتری برای نسبت کلروفیل (a/b) بودند. در شرایط تنش خشکی در فاصله اقلیدسی ۲۱/۸ ارقام اسپرس به سه گروه جداگانه تقسیم شدند (شکل ٤). گروه اول دارای ارقام شماره ۳، ۷، ۸ و ۹ بود. مشاهده ویژگی‌های این گروه حکایت از آن داشت که ارقام این گروه از درصد رطوبت نسبی پایین و محتوای پرولین بالایی برخوردارند (جدول ۲)، این گروه نیمه مقاوم نامیده شد. گروه دوم شامل ارقام شماره ۵، ٦ و ۱۰ بود. ارقام این گروه دارای مقدار بالاتری از درصد رطوبت نسبی بوده و از لحاظ محتوای پرولین از مقدار کمتری برخوردار بودند که گروه مقاوم نام گرفت (جدول ۲). گروه سوم شامل ارقام ۱، ۲ و ٤ بود که از لحاظ هر دو صفت درصد رطوبت نسبی برگ و محتوای پرولین دارای مقدار کمتری بودند این گروه را می‌توان حساس به تنش خشکی دانست.



شکل ۳- نمودار خوشه‌ای براساس صفات فیزیولوژیک در ارقام اسپرس براساس فاصله اقلیدسی و روش UPGMA تحت شرایط عدم تنش



شکل ٤- نمودار خوشه‌ای براساس صفات فیزیولوژیک در ارقام اسپرس براساس معیار فاصله اقلیدسی و روش UPGMA تحت شرایط تنش

بحث

خشکی شایع‌ترین تنش غیر زیستی در شرایط فعلی کشور ما محسوب می‌گردد. اولین و بارزترین تأثیر تنش خشکی کاهش تولید اقتصادی گیاه است، اگرچه علت این کاهش تحت تأثیر قرار گرفتن فرایندهای فیزیولوژیک در گیاه می‌باشد. در پژوهش حاضر تنش خشکی میانگین عملکرد علوفه را ۲۵ درصد کاهش داد که با نتایج دیگر مطالعات نیز تطابق دارد. به‌عنوان‌مثال، در یک مطالعه در یونجه متوسط عملکرد علوفه در اثر تنش خشکی طی چین‌های مختلف ٢٤ درصد کاهش نشان داد (Pataki *et al*, 2003). کاهش در عملکرد علوفه در گیاهان علوفه‌ای در اثر تنش خشکی توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (Buxton, 2004; Martens, 2007; Saeed & El-Nadi, 1997). با وجود کاهش در عملکرد علوفه، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بین ارقام از نظر میزان تأثیر پذیری از تنش تنوع وجود دارد. این تنوع می‌تواند ناشی از تنوع در سایر خصوصیات درگیر در مسیر تولید اقتصادی گیاه به‌ویژه خصوصیات فیزیولوژیک باشد. تحقیقات نشان داده که تنش کم آبی باعث کاهش شدید محتوای نسبی آب و پتانسیل آب کل می‌شود (Bajji *et al*., 2001). بالابودن محتوای نسبی آب در ژنوتیپ متحمل به خشکی، می‌تواند بدلیل سازوکارهای کاهش دهنده تلفات آب از طریق روزنه‌ها (بسته‌تر شدن روزنه‌ها) و یا به واسطه جذب بیشتر آب از طریق گسترش توسعه ریشه باشد (Jiang & Huang, 2001)؛ البته مشخص شدن دلیل این موضوع در گیاه اسپرس نیاز به تحقیق بیشتری دارد. همچنین در این مطالعه ارقام اسپرس در شرایط تنش خشکی افزایش شدیدی برای محتوای پرولین نشان دادند. پرولین و دیگر آمینواسیدها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی در بسیاری از گیاهان در

شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابند (Iannucci *et al*, 2002; Nayyar & Walia, 2003). اما تجمع بیشتر پرولین در یک رقم الزاما نمی‌تواند دلیل بر تحمل بالاتر آن رقم باشد. در یک مطالعه Mohsenzadeh و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی پاسخ‌های مولکولی و فیزیولوژیک *Aeluropus lagopoides* به تنش خشکی، بیان کردند زمانی که محتوای نسبی آب کمتر از ۵ درصد کاهش یافت محتوای پرولین فقط ۱/۵ درصد افزایش نشان داد اما زمانی که محتوای نسبی آب بیش از ۲۰ درصد کاهش یافت، محتوای پرولین تا ۵ برابر افزایش نشان داد. در مطالعه دیگری Safarnejad (۲۰۰٤) با بررسی اثر تنش اسمزی بر ژنوتیپ‌های یونجه گزارش نمود که ژنوتیپ‌های مقاوم، واکنش سریع‌تر و بیشتری از نظر تجمع پرولین نسبت به گونه-های حساس نشان دادند. در یونجه Yousfi و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثر تنش خشکی روی رشد، محتوای نسبی آب و انباشتگی عناصر بیان داشتند که تحت تنش خشکی محتوای آب نسبی برگ کاهش و پرولین افزایش یافت که میزان افزایش پرولین برابر ۵۲۳ درصد بود. افزایش پرولین در هنگام روبرو شدن با تنش خشکی بر روی سایر گیاهان مثل گندم (Nayyar & Walia, 2003)، ذرت (Serraj & Sinclair, 2002)، بادام زمینی (Smith *et al*, 2002)، شبدر (Iannucci *et al*, 2002) و یونجه (Aranjuelo *et al*, 1992) گزارش شده است. البته در برخی گزارش‌ها نیز اشاره شده است که پرولین و تجمع آن در شرایط تنش خشکی نمی‌تواند به‌عنوان یک شاخص مقاومت به خشکی در یک رقم یا گونه خاص به حساب آید. مثلاً گزارش شده است که با وجود افزایش پرولین در برخی گراس-ها، نمی‌توان این تجمع را شاخصی از مقاومت به خشکی به حساب آورد، بلکه این افزایش شاخص خوبی از قدرت تنش خشکی است که بر گیاه اعمال شده است (Bokhari & Trent, 1985). در مطالعه حاضر نیز ارقامی که تجمع پرولین بیشتری داشتند الزاما از عملکرد بالایی در شرایط تنش برخوردار نبودند. اما محتوای نسبی آب برگ شاخص بهتری برای شناسایی ژنوتیپ‌های دارای کاهش کمتر عملکرد در شرایط تنش می‌باشد.

یکی از اثرات محسوس تنش خشکی، تأثیر بر میزان فتوسنتز در گیاه می‌باشد که در ارتباط مستقیم با محتوی کلروفیل در گیاه می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل تحت شرایط تنش خشکی کاهش معنی-داری داشت. بنابراین به‌نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی، به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد، که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می-گردد (Schutz & Fangmeir, 2001). با بررسی تأثیر تنش خشکی بر میزان ماده خشک و رنگیزه‌های فتوسنتزی در دو گونه اسپرس، Ramak و همکاران (۲۰۰٦) گزارش کردند که تنش کمبود آب باعث کاهش کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در کلیه محیط‌های تنش شده است. بی‌تردید گونه‌ای که بتواند کاروتنوئید بیشتری داشته باشد در تنش اکسیداتی و ناشی از تنش آب دفاع موفق‌تری خواهد داشت و در مقابل تنش آب تحمل بیشتری از خود نشان می‌دهد (Foyer *et al*, 1998). در یونجه Aranjuelo و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند با افزایش درجه حرارت و رژیم

آبیاری میزان عملکرد علوفه خشک به‌علت کاهش میزان فتوسنتز خالص از طریق کاهش سطح برگ و تقلیل فعالیت آنزیم روبسیکو (Rubisco enzyme) کاهش پیدا نمود.

تجزیه خوشه‌ای روش مناسبی برای اندازه‌گیری و تعیین فواصل ژنتیکی، دوری یا نزدیکی خویشاوندی بین ژنوتیپ‌ها و ارقام می‌باشد، بنابراین تجزیه خوشه‌ای روش برآورد شباهت بین افراد در یک جمعیت است (Johnson & Wichern, 2007). هدف یک متخصص اصلاح‌نباتات از دسته‌بندی ارقام و واریته های مختلف، پی‌بردن به فاصله ژنتیکی بین آنها و استفاده از تنوع ژنتیکی موجود در آنها در برنامه های اصلاحی می باشد (Anderberg, 1973). در این پژوهش از این روش برای گروه‌بندی ارقام در شرایط عادی و تنش خشکی استفاده گردید. نتایج حکایت از آن داشت که ارقام بر اساس همه صفات اندازه‌گیری شده در گروه‌های متفاوتی قرار گرفتند که هر گروه از نظر یک یا دو خصوصییت فیزیولوژیک برتری داشت. ارقامی که در گروه‌های متفاوت قرار می‌گیرند دارای بیشترین فاصله ژنتیکی نسبت به یکدیگر می‌باشند و می‌توانند برای انتخاب والدین تلاقی و نیز توسعه ارقام ساختگی مورد استفاده قرار گیرند. از این روش در اسپرس برای جداسازی ارقام مقاوم و حساس به خشکی استفاده شده است (Delgado *et al*, 2008). بررسی سایر سازوکارهای درگیر در تحمل به خشکی در اسپرس و شناسایی ارقام برتر از نظر صفات فیزیولوژیک متفاوت می‌تواند زمینه را برای اصلاح و توسعه ارقام مقاوم به خشکی در این گونه مفید علوفه‌ای در کشور هموار سازد. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که بین ارقام و توده‌های اسپرس مورد مطالعه از نظر صفات فیزیولوژیک در شرایط عادی و تنش خشکی تنوع بالایی وجود دارد. این تنوع بالا نویدبخش کارایی روش‌های انتخاب به منظور اصلاح و ایجاد ارقام متحمل به خشکی می‌باشد. در اسپرس بدلیل ماهیت دگرگشن بودن این گیاه روش اصلاحی ایجاد واریته ترکیبی مرسوم است. در این راستا شناسایی اجزای واریته ترکیبی که دارای عملکرد مناسب بوده و از طرفی بین آنها از نظر سازوکارهای فیزیولوژیک تنوع کافی وجود داشته باشد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

منابع مورد استفاده

- Akhondi, M., Safarnejad, A. and Lahoti, M. 2006. Effects of drought stress on proline accumulation and changes in elements of Yazdi, Nikshahri and Renger alfalfa (*Medicago sativa* L.), Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources, 10: 165-174.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D. and Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration guidelines for computing crop water requirements irrigation and drainage. Rome, Italy, pp 56.
- Anderberg, M. R. 1973. Cluster Analysis for Applications, New York; Academic Press, Pp 359.
- Aranjuelo, M. I., Irigoyen, J. J. and Diaz, M. S. 2001. Effect of increased temperature and drought associated to climate change on change on productivity of modulated alfalfa. *En. XIV Eucarpia Medicago SPP. Group Meeting*. Quality in Lucerne and Medics for Animal Production. Zaragoza, pp127.
- Bajji, M., Luttus, S. and Kinet, J. M. 2001. Water deficit effect on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat cultivars performing differently in arid condition. Plant Science. 160: 669-681.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, L. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.
- Bokhari, U. G. and Trent, J. D. 1985. Proline concentrations in water stressed grasses. Journal of Rangeland Management. 38: 37-38.

– Buxton, D. R. 2004. Growing quality forages under variable environmental conditions, USDA, Iowa State University, USA.Pp220
– Dadkhah, M., Majidi, M.M. and Mirlohi, A. 2011. Multivariate analysis of relationships among different characters in Iranian Sainfoin populations (*Onobrichis viciifolia* Scop.). Iranian Journal of Field Crop Science, 42:349-357.
– Delgado, I., Salvia, J., Buil, I. and Andres, C. 2008. The agronomic variability of a collection of sainfoin accessions. Spanish Journal of Agriulture Research, 6: 401-407.
– Foyer, C.H., Valadier, M.H., Migge, A. and Becker, T.W. 1998. Drought induced effects on reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. Plant Physiology, 117: 283-292.
– Gerami, B. 1990. Sainfoin, Isfahan University of Technology Press, 87p. (In Persian)
– Ghorbani Javid, M., Moradi, F., Akbari, Gh. A., and Allahdadi, I. 2006. The role of some metabolites on the osmotic adjustment mechanism in annual cutleaf medic (*Medicago laciniata* (L.) Mill) under drought stress. Iranian Journal of Crop Sciences, 8: 90-105.
– Iannucci, A., Russo, M., Arena, L., Difonzo, N. and Martiniello, P., 2002. Water deficit effects on osmotic adjustment and solute accumulation in leaves of annual clovers, European Journal of Agronomy, 16: 111-122.
– Jiang, Y. and Huang, N., 2001. Drought and heat stress injury to two cool season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41: 436-442.
– Johnson, R. A. and Wichern, D. W., 2007. Applied Multivariate Statistical Analysis. 4th ed., Prentice Hall International, INC., New Jersey. Pp 773.
– Karimi, H. 1997. Weather report of the central region of Iran, University Jihad of Isfahan Publications, (In Persian). Pp 254.
– Maghsoudi Moud, A. and Lordan, M., 2006. Transpiration efficiency and relative water content of eight alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars under mild water stress condition. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 14: 128-137.
– Miller, G., Stein, H., Honig, A., Kapulnik, Y. and Ziberstein, A., 2005. Responsive modes of *Medicago sativa* proline dehydrogenase genes during salt stress and recovery dictate free proline accumulation. Journal of Planta, 222: 70-79.
– Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C., 2001. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. John Wiley and Sons, Inc., Pp 522.
– Martens, D., 2007. Management of drought stressed alfalfa, available at http:/www. Co. Stearns. Mn. Usldocum – ents/ E
– Mohsenzadeh, S., Malboobi, M. A., Razavi, K. and Farrahi-Aschtiani, S., 2006. Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit. Environmental and Experimental Botany, 56: 314-322.
– Nunes, C., Araujo, S. D. S., Da Silva, J. M., Fevereiro, M. P. S. and Da Silva, A. B., 2008. Physiological responses of the legume model *Medicago truncatula* cv. Jemalong to water deficit. Environmental and Experimental Botany, 63: 289-296.
– Pataki, I., Katic, S., Mihailovic, V., Milic, D. and Karagic, D., 2003. Yield, morphology and chemical composition of five Lucerne genotypes as affected by growth stage and the environment. Proc: of the 12th symposium of the European Grassland federation, Pleven, Bulgaria.pp127.
– Nayyar, H. and Walia, D. P., 2003. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. Biologia Plantarum, 46: 275-279.
– Ramak, P. Khavari-Nejad, R., Hidari Sharifabad, H., Rafiee, M. and Khademi, K., 2006. The effect of water stress on dry weight and photosynthetic pigments in two sainfoin species. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 14: 80-91.
– Safarnejad, A., 2004. Characterization of somaclones of alfalfa (*Medicago sativa* L.) for drought tolerance. Journal of Agriculture Science and. Technology, 6: 121-127.
– Serraj, R. and Sinclair, T. R., 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions. Plant and Cell Environment, 25: 333-341.
– Saeed, I. A. M. and El-Nadi, A. H., 1997. Irrigation effects on the growth, yield, and water use efficiency of alfalfa. Irrigation Science, 17: 63-68.
– Staden, J., Hare, P. D. and Cress, W. A., 1999. Proline synthesis and degradation a model system for elucidating stress-related signal transduction. Journal of Experimental Botany, 50: 413-434.
– Schutz, M., and Fangmeir, E., 2001. Growth and yield responses of spring wheat (T*riticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO_2 and water limitation. Environmental Pollution, 114: 187-194.
– Smith, B. N., Girija, C. and Swamy, P. M., 2002. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycine betaine in peanut (*Arachis hypogaea* L.).

Environmental and Experimental Botany, 47: 1-10.

– Yousfi, N., Slama, I., Ghnaya, T., Savoure, A., and Abdelly, Ch., 2010. Effects of water deficit stress on growth, water relations and osmolyte accumulation in *Medicago truncatula* and *M. laciniata* populations. Comptes Rendus Biologies, 333: 205-213.

– Zhang, J., Nguyen, H. T. and Blum, A., 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. Journal of Experimental Botany, 50: 291-302

Response of physiological traits to drought stress in some populations of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*)

A. Veisipoor[1], M. M. Majidi[*2] and A. Mirlohi[3]

1- M.Sc., Plant breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R.Iran
2*- Corresponding author, Assis. Prof., Plant breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R.Iran. E-mail: majidi@cc.iut.ac.ir
3- Prof., Plant breeding, College of Agriculture , Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R.Iran

Received: 09.23.2012 Accepted: 06.25.2013

Abstract

This study was conducted to evaluate the response of physiological traits of sainfoin to drought stress and to identify drought tolerant populations in a sainfoin collection from Iran. Ten populations were evaluated over two harvests according to a split plot in time design under normal and drought stress conditions. Analysis of variance showed significant difference among sainfoin cultivars for all the measured traits except for chlorophyll a/b ratio and carotenoids content. Drought stress significantly increased proline content while forage yield and other traits were considerably decreased. Under normal moisture condition Fereidonshahr2 and Khansar2 with average values of 37 and 34 ton/ha had the highest forage dry matter yield while in stress condition Isfahan, Fereidonshahr2 and Kerman cultivars produced more forage yield. Proline content increased more than 600 percent under drought stress while relative water content and total chlorophyll content decreased 28 and 14 percent, respectively. The results of cluster analysis in both conditions separated cultivars into three groups identified as tolerant, moderately tolerant and susceptible, respectively. Tolerant cultivars could be used for future breeding studies in developing drought tolerant varieties.

Key words: Drought, Sainfoin, Proline, Chlorophyll, Cluster analysis.