

دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۲، شماره ۱، صفحه ۵۴-۴۳ (۱۳۹۳)

بررسی تحمل شوری در اکو-تیپ‌های مختلف یونجه یکساله (*Medicago truncatula*)

مریم فروزانفر^۱، محمد رضا نقوی^{۲*}، سید علی پیغمبری^۳، علی اشرف جعفری^۴ و سعید نصیری کمال آباد^۵

۱- دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۲- نویسنده مسئول مکاتبات، استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

پست الکترونیک: mnaghavi@ut.ac.ir

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

۴- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

۵- کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۷/۲۶

چکیده

در این مطالعه ۱۳ اکو-تیپ یونجه یکساله (*Medicago truncatula*) از ایران و استرالیا از لحاظ تحمل به تنش شوری در دو شرایط طبیعی و تنش شوری در قالب یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی ارزیابی شدند. صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد پنجه، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه، غلظت یون‌های سدیم و پتانسیم اندازه‌گیری گردیدند. تنوع بالایی بین اکو-تیپ‌ها در صفات مورد ارزیابی در دو شرایط طبیعی و تنش شوری مشاهده گردید. نتایج تجزیه همبستگی میان صفات نشان داد که تعداد برگ نقش مهمی در عملکرد علوفه یونجه دارد. همچنین ارتفاع ساقه با میزان K همبستگی منفی و معنی‌داری و با میزان Na همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان داد. براساس نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، سه مؤلفه اول با مقدار ویژه بالاتر از یک، حدود ۷۳/۷ درصد از تغییرات کل را توجیه نمودند. مؤلفه اول با تعداد برگ، تعداد پنجه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی و مؤلفه دوم با وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و میزان K ارتباط نشان داد. در حالی که مؤلفه سوم ارتباط مثبتی با ارتفاع ساقه و Na نشان داد. همچنین، براساس نتایج تجزیه خوش‌های اکو-تیپ‌های مورد بررسی در دو گروه جداگانه قرار گرفتند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های متحمل و گروه دوم شامل ژنوتیپ‌هایی بود که از نظر بیشتر صفات در حد پایینی قرار داشته و نسبتاً حساس به شوری بودند.

واژه‌های کلیدی: یونجه یکساله، تحمل شوری، اکو-تیپ، سدیم، پتانسیم

مقدمه

بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی سرتاسر دنیا تحت تأثیر شوری قرار دارند (F.A.O., 2000). شوری به عنوان یک تنش غیر زنده، اثرات زیانباری را بر کیفیت و کمیت محصولات زراعی بر جای می‌گذارد. یونجه مهمترین لگوم علوفه‌ای چندساله است که با زمستان‌های سرد و تابستان‌های

گرم و خشک سازگار است و به صورت مرتع و یا علوفه کشت می‌شود، این گیاه نسبتاً "حساس به شوری است، و آستانه تحمل به شوری در آن ۲ دسی‌زیمنس بر متر (معادل ۲۰ mM NaCl) است و حداقل ECe قابل تحمل توسط آن، ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر (معادل ۱۶۰ mM NaCl) می‌باشد (Shannon, 1984).

و McNeilly (۲۰۰۴)، پیشنهاد کرده‌اند که در گیاه کلزا حفظ نسبت بالای K^+/Na^+ در بافت گیاه به عنوان معیار تحمل به شوری است. شوری، رشد گیاه و وزن خشک شاخصاره را کاهش می‌دهد، بسیاری از محققان بیان می‌کنند که اثر منفی شوری بر وزن خشک شاخصاره بیشتر از وزن خشک ریشه است، بنابراین، شاخصاره به شوری حساس‌تر از ریشه است Cordovilla *et al.*, 1995; Soussi *et al.*, 1998; Tejera *et al.*, 2004; Johnson *et al.*, 2004). در مطالعه‌ای بر روی گیاه یونجه، NaCl همکاران (۱۹۹۲) بیان کردند که ۸۰ میلی‌مولار $NaCl$ جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهچه و رشد مجدد را کاهش می‌دهد. در ضمن Rahmani (۱۹۸۶)، طی مطالعه‌ای بر روی ارقام یونجه بومی ایران در شرایط تنش شوری عنوان کرده است که تنش شوری موجب کاهش ارتفاع گیاه و طول ریشه شده و نیز وزن خشک اندام هوایی و ریشه را کاهش می‌دهد. همین‌طور Hashemi Jazi (۱۹۹۹)، در مطالعه‌ای تحت عنوان بررسی تحمل به شوری در ارقام یونجه بومی، همدانی و یزدی تحت پتانسیل‌های -۳، -۶، -۹ مگاپاسکال اظهار داشت که غلظت یون سدیم در ریشه و اندام هوایی تیمار شوری نسبت به شاهد افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد و این افزایش در ریشه نسبت به بخش هوایی بیشتر بود.

با توجه به کمبود روش‌های مناسب ارزیابی ژنتیک‌ها در برنامه‌های بهنژادی، کارایی پایین انتخاب براساس پارامترهای زراعی و همچنین پیچیدگی پارامترهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک، بنابراین انجام این تحقیق برای بررسی صفات فیزیولوژیکی مختلف و همبستگی آنها با عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه جهت تعیین صفت مشخص و مطلوب برای تعیین مقاومت به شوری در ارقام مختلف یونجه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر تنش شوری بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی اکوئیپ‌های مختلف یونجه، آزمایشی در پاییز سال ۱۳۸۹ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم مهندسی کشاورزی دانشگاه تهران انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید. فاکتورها شامل سطوح شوری (صفر و ۱۲۰ میلی‌مولار

گونه Medicago truncatula یک گونه یونجه یکساله خودرو در نواحی مدیترانه‌ای است که تنوع زیستی فراوانی را نشان می‌دهد (Joshi, 1984). این گیاه از نظر ژنتیکی ارزش بالایی دارد، زیرا مدت زمان تولید بذر در آن کوتاه، بازدهی انتقال ژن در آن زیاد و دارای ژنوم کوچک و دیبلویید می‌باشد. این گونه رابطه ساختاری با دیگر گیاهان لگومینوز Medicago مخصوصاً با Medicago sativa دارد. بنابراین، Medicago truncatula می‌تواند به عنوان یک گیاه ارزشمند برای کلونینگ ژن‌های مهم اقتصادی در یونجه مورد استفاده قرار گیرد. به طور کلی شوری با سازوکارهای مختلفی به رشد گیاه آسیب وارد می‌کند. از جمله بروز اختلال تغذیه‌ای در نتیجه غلظت زیاد یون‌ها (Na^+ و Cl^-) که منجر به کاهش جذب فسفر، پتاسیم و نیتروژن می‌گردد. زیرا افزایش فشار اسمزی محلول خاک در اثر شوری، کاهش جذب آب و عناصر دیگر توسط گیاه را به دنبال دارد. همچنین، سمیت مخصوص یون‌ها باعث اختلال در جذب یون‌های دیگر می‌گردد. میزان عملکرد با میزان تجمع یونها نیز در ارتباط است. تجمع Na^+ در برگ‌ها تحمل شوری را از لحاظ عملکرد دانه کاهش می‌دهد (Yeo and Flowers, 1986; Scuchtman and Munns, 1992; Munns *et al.*, 1995; Poustini and Siosemardeh, 2004). گیاهان از سازوکارهای مختلفی مانند ممانعت، دفع، رقیق‌سازی و تنظیم اسمزی برای مقاومت به شوری استفاده می‌کنند (Levitt, 1980). در این مخصوص Noble و همکاران (۱۹۸۴)، گزارش کرده‌اند که جذب کلرید سدیم در قسمت هوایی گونه‌های مقاوم یونجه نسبت به گونه‌های حساس به کلرید سدیم کمتر بوده است. در نتیجه تحمل به شوری در یونجه را به سازوکار ممانعت که توسط سایر گلیکوفیت‌ها هم عمل می‌شود، نسبت داده‌اند. نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که تنظیم اسمزی نیز یکی از سازوکارهایی است که در یونجه سبب افزایش تحمل به شوری می‌شود (Levitt, 1980). سلول برای انجام وظایف طبیعی به نسبت بالایی از K^+/Na^+ نیاز دارد (Chinnusamy *et al.*, 2005). جذب و توزیع سدیم Na^+ به درون ریشه عمده‌تاً با پتاسیم مرتبط است، زیرا خروج در کورتکس ریشه توسط ورود K^+ تحریک می‌شود و این امر به خاصیت انتخابی K^+/Na^+ مرتبط است. همچنین Ashraf

پارامترهای مورد اندازه‌گیری در این مطالعه عبارت بودند از ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، تعداد برگ در بوته، تعداد پنجه در بوته، وزن تر برگ در هر بوته (گرم)، وزن خشک برگ در هر بوته (گرم)، وزن تر ساقه در هر بوته (گرم)، وزن خشک ساقه در هر بوته (گرم)، اندازه‌گیری غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم در بافت‌های مختلف گیاه که در مرحله ۶۳ روز بعد از اعمال تنفس شوری و مرحله ۱۰٪ گلدهی انجام شد.

به منظور اندازه‌گیری غلظت یون‌های مختلف، ۵ بوته از هر واحد آزمایشی برداشت شد و نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و با استفاده از روش اسید کلریدیریک ۲ نرمال برای تجزیه سدیم و پتاسیم مورد استفاده قرار گرفتند. اندازه‌گیری یون‌ها توسط دستگاه فلیم‌فوتومتر انجام شد.

داده‌های مورد بررسی تجزیه واریانس برای هریک از سطوح شوری، از طریق میانگین داده‌های هر کرت انجام شد. سپس با استفاده از ضریب همبستگی ساده پیرسون میزان ارتباط بین متغیرها به دست آمد. همچنین، از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به منظور کاهش حجم داده‌ها و شناسایی نقش صفات مختلف در اکوئیپ‌های مختلف استفاده گردید. گروه‌بندی اکوئیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق از طریق روش تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA انجام شد.

نتایج

نتایج آزمایش فاکتوریل نشان داد، با در نظر گرفتن هر دو شرایط شوری، اثر اکوئیپ، شرایط و اثر متقابل آنها برای کلیه صفات معنی دار بود (جدول ۱). نتایج تجزیه واریانس جداگانه مربوط به داده‌های حاصل از آزمایش در دو شرایط طبیعی و تنفس (جداوی ۳ و ۴)، نشان داد که اختلاف آماری معنی داری بین ژنوئیپ‌های مورد بررسی وجود داشت. در شرایط طبیعی، صفت ارتفاع ساقه در سطح ۵٪ و صفات تعداد برگ، وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه در سطح ۱٪ اختلاف آماری معنی دار داشتند. حال آنکه در شرایط تنفس

کلرید سدیم و کلرید کلسیم تکمیلی) و ۱۳ اکوئیپ از گونه *Medicago truncatula* از یونجه‌یکساله در نظر گرفته شد. منشأ اکوئیپ‌ها از ایران و استرالیا می‌باشند و از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه شدند (جدول ۱). بذرهای سالم و یک‌اندازه پس از ضدغافونی شدن با محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ در گلدان‌های ۴ کیلوگرمی حاوی خاک سبک رس، ماسه، شن و کود حیوانی به ترتیب با نسبت‌های ۲:۳:۲ کشت شدند. پس از طی ۳ هفته از استقرار گیاهچه‌ها، تیمار شوری بر آنها اعمال گردید. برای جلوگیری از شوک اسمزی در آغاز اعمال تیمار شوری طی ۳ روز متوالی گلدان‌ها توسط ۵۰ میلی‌مولار NaCl (ساخت شرکت مرک آلمان) آبیاری شدند تا به غلظت نهایی ۱۲۰ میلی‌مولار برسند. پس از حصول غلظت نهایی برای جلوگیری از کمبود کلسیم در شرایط شوری، کلرید کلسیم تکمیلی به غلظت ۱۰ میلی‌مولار به آب آبیاری اضافه گردید. هدایت الکتریکی (EC) زهکش گلدان‌ها توسط دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (مدل Inolab) هر هفته اندازه‌گیری شد تا از تجمع بیش از حد شوری در خاک جلوگیری به عمل آید.

جدول ۱- اکوئیپ‌های یونجه‌های یکساله (*M. truncatula*) مورد مطالعه

کد اکوئیپ	محل جمع‌آوری	کد نمونه
۱	گلستان	۷۶۰۰
۲	استرالیا	۱۵۹۰
۳	یزد	۲۰۵۷۸
۴	استرالیا	۲۰۵۸۶
۵	گرگان	۲۴۷۶
۷	استرالیا	۲۰۴۰۳
۸	استرالیا	۲۳۶۰
۹	استرالیا	۲۰۵۸۷
۱۰	استرالیا	۲۰۵۸۵
۱۱	کرج	۸۳۱۷
۱۲	استرالیا	۶۸۸۱
۱۳	قم	۷۳۲۱
۱۴	کرج	۶۰۵

نتایج ضرایب همبستگی بین صفات مختلف (جدول ۷) در بیشتر حالات معنی دار بود. تعداد برگ بجز با صفت تعداد پنجه با بقیه صفات همبستگی معنی داری را نشان داد. ارتفاع ساقه همبستگی مثبت و بسیار معنی داری با $Na (r=0.472)$ و $K (r=-0.512)$ نشان داد. میزان Na بجز با صفت تعداد پنجه و میزان K بجز با صفت تعداد پنجه و وزن تر ریشه با بقیه صفات همبستگی معنی داری داشتند. با تجزیه به مؤلفه های اصلی سه مؤلفه استخراج گردید. واریانس هر کدام از مؤلفه ها، درصد واریانس هر عامل نسبت به واریانس کل و واریانس تجمعی در جدول ۸ ارائه شده است. مؤلفه های سه گانه بر روی هم $73/7$ % از اختلاف در داده ها را توجیه کردند. مؤلفه اول با تخصیص $40/1$ درصد از تغییرات کل عمدتاً توجیه کننده صفات تعداد برگ، تعداد پنجه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی بودند و متغیر دوم با $21/1$ درصد از تغییرات توجیه کننده وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و میزان K بودند. در حالی که متغیر سوم با $12/5$ درصد تغییرات توجیه کننده Na بود.

صفات وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن تر ریشه و Na در سطح 1% معنی دار بودند. به منظور بررسی کم و کیف اختلاف مشاهده شده بین اکوتیپ های یونجه از نظر صفات مختلف، مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد که نتایج آن در جدول های ۵ و ۶ آمده است. در شرایط طبیعی ژنوتیپ یک برای صفات تعداد برگ، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، میزان Na و K و در شرایط تنفس برای صفات تعداد برگ، تعداد پنجه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک ریشه دارای بیشترین مقدار بود. ژنوتیپ های ۳ و ۱۰ در هر دو شرایط برای صفت Na بیشترین مقدار را داشتند و ژنوتیپ های ۱۱ و ۸ برای صفت ارتفاع ساقه بیشترین مقدار را در هر دو محیط نشان دادند. میانگین وزن خشک اندام هوایی براساس تمام ژنوتیپ ها در شرایط طبیعی $412/0$ و در شرایط تنفس $274/0$ گرم بود. با افزایش سطح شوری طول ساقه گیاهان با روند منظم کاهش یافت، به طوری که میانگین طول ساقه براساس تمام ژنوتیپ ها در شرایط طبیعی $11/311$ و در شرایط تنفس $8/197$ سانتی متر بود. میانگین میزان Na برای کلیه ارقام در شرایط طبیعی $1/228$ میلی مولار و در شرایط تنفس $1/960$ میلی مولار و برای K در شرایط طبیعی $2/103$ میلی مولار بود.

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات مختلف در قالب آزمایش فاکتوریل

ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	تعداد برگ	تعداد پنجه	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ریشه هوایی (گرم)	وزن خشک اندام (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	Na	K
۲۹***	۰/۴۲	۸/۳۹	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۱	۰/۲۰۸۹
۱۸۵***	۳۳/۹۹***	۵/۰۲۹	۲/۳۳***	۰/۰۷۷***	۰/۰۲***	۰/۰۷۷***	۰/۰۳۷***	۰/۰۰۲	۰/۳۰۳	۰/۲۱۲
۲/۶	۲/۱۳	۲/۳۷	۰/۰۵	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۷	۰/۰۸
۴/۱۱	۲/۱۳	۲/۳۷	۰/۰۵	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۷	۰/۰۸

جدول ۳- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات مختلف در شرایط تنفس

تعداد برگ	تعداد پنجه	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ریشه هوایی (گرم)	وزن خشک اندام (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	Na	K
۶/۲۸	۴/۹۳	۰/۰۱۸۴	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۹۶	۰/۰۱۳	۰/۰۴۱	۰/۰۳۶	
۶/۱۲	۵/۹۷	۰/۴۰۲***	۰/۱۴۸***	۰/۰۲۶***	۰/۰۱۴***	۰/۲۱۵۲	۱/۱۱۰۷***		
۲/۱۳	۲/۳۷	۰/۰۵	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱۷	۰/۰۸	۰/۰۷		

جدول ۴- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات مختلف در شرایط طبیعی (بدون اعمال تیمار شوری)

تعداد برگ	تعداد پنجه	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه ریشه (گرم)	وزن تر ریشه هوایی (گرم)	وزن خشک اندام (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	Na	K
۰/۴۲	۸/۳۹	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۷	۰/۰۴۱	۰/۲۰۸۹		
۳۳/۹۹***	۵/۰۲۹	۲/۳۳***	۰/۰۳۷***	۰/۰۲***	۰/۰۷۷***	۰/۳۰۳	۰/۲۱۲		
۲/۱۳	۲/۳۷	۰/۰۵	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱۷	۰/۰۷	۰/۰۸		

جدول ۵- مقایسه و دسته‌بندی میانگین صفات مختلف در شرایط طبیعی

نام غذایی (mM)	نام غذایی (mM)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	تعداد پنجه	تعداد گل
ab ₁ /۳۹۸	a ₂ /۳۴۷	f ₀ /۱۵۷	b ₀ /۶۰۳	d ₀ /۲۶۰	b ₂ /۹۶۳	bd ₇ /۳۳۳	a ₁₆ /۲
b ₁ /۰۹۲	ad ₂ /۰۱۲	ef ₀ /۱۶۰	de ₀ /۳۵۰	ef ₀ /۱۶۷	cd ₁ /۸۲۳	ab ₁₀ /۱۱	bc ₁₀ /
ab ₁ /۴۴۳	cd ₁ /۵۷۷	de ₀ /۱۹۳	ef ₀ /۳۳۳	d ₀ /۲۹۰	df ₁ /۶۷۴	ac ₉ /۶۶۷	cd ₉ /۸
ab ₁ /۱۹۴	ab ₂ /۲۲۸	bc ₀ /۲۴۷	cd ₀ /۴۲۳	cd ₀ /۳۱۷	cd ₁ /۹۳۷	a ₁₀ /۵۰۳	bc ₁₀ /
b ₀ /۹۶۷	bd ₁ /۷۰۲	b ₀ /۲۶۰	de ₀ /۳۵۰	b ₀ /۳۹۷	df ₁ /۶۴۹	d ₆ /۴۴۷	b ₁₂ /۱
b ₁ /۰۵۲	ad ₂ /۰۴۵	d ₀ /۲۰۳	a ₀ /۸۵۷	bc ₀ /۳۶۷	a ₄ /۴۲۰	ad ₈ /۲۲۳	a ₁₈ /۷
c ₀ /۴۷۸	a ₂ /۳۴۶	ef ₀ /۱۶۰	c ₀ /۴۶۰	d ₀ /۲۴۸	c ₂ /۰۸۳	cd ₆ /۶۶۳	bc ₁₀ /
ab ₁ /۲۹۹	ad ₁ /۹۷۶	g ₀ /۰۷۷	e ₀ /۲۴۳	e ₀ /۱۷۷	ce ₁ /۷۵۶	ad ₈ /۴۴۲	cd ₈ /۷
a ₁ /۶۲۸	ad ₁ /۹۴۶	g ₀ /۰۶۳	g ₀ /۲۴۰	ef ₀ /۱۲۳	g ₁ /۱۷۶	bd ₇ /۴۴۷	d ₇ /۴
ab ₁ /۴۶۹	ad ₁ /۸۸۸	g ₀ /۰۴۷	fg ₀ /۲۶۷	f ₀ /۱۰۳	fg ₁ /۲۷۷	bd ₇ /۲۲۳	d ₇ /۲
a ₁ /۶۶۳	d ₁ /۵۰۴	cd ₀ /۲۲۰	de ₀ /۳۷۷	d ₀ /۲۷۰	fg ₁ /۳۲۹	ad ₈ /۴۴۷	cd ₈ /۷
ab ₁ /۲۳۷	ac ₂ /۱۰۱	ef ₀ /۱۶۳	de ₀ /۳۷۷	d ₀ /۲۷۰	eg ₁ /۳۵۳	bd ₇ /۲۲۳	b ₁₂ /۱
b ₁ /۰۴۰	ad ₁ /۸۱۲	a ₀ /۳۴۰	de ₀ /۳۸۰	a ₀ /۵۰۰	dg ₁ /۸۳۸	ad ₈ /۳۳۳	cd ₈ /۷

ر می‌باشد.

جدول ۶- مقایسه و دسته‌بندی میانگین صفات مختلف در شرایط تنفس

تعداد پنجه	وزن اندام هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام ریشه (گرم)	وزن خشک (گرم)	غله‌ت ک (Mm)	غله‌ت نا (mM)
۱۱/۱۱۰a	۱/۸۳۳a	۰/۳۷۴de	۰/۳۶۳ab	۰/۲۶۲bc	۰/۸۵۴bc	۲/۵۷۸bc	۲/۵۷۸bc
۷/۱۱۰b	۱/۲۳۴cd	۰/۴۷۰cd	۰/۲۶۳ce	۰/۳۳۰a	۰/۷۱۷c	۲/۲۲۴cd	۲/۲۲۴cd
۶/۳۳۲b	۰/۹۴۷e	۰/۱۴۳f	۰/۲۲۳df	۰/۱۵۳d	۰/۰۰۴bc	۳/۲۹۴a	۳/۲۹۴a
۷/۰۰۰b	۱/۴۹۳b	۰/۳۴۷de	۰/۲۵۷ce	۰/۲۹۷vac	۰/۷۵۵c	۲/۱۱۰ce	۲/۱۱۰ce
۶/۰۰۳b	۱/۰۸۷de	۰/۴۵۰ce	۰/۳۱۰bc	۰/۲۷۳ac	۰/۷۸۸abc	۲/۰۰۱cf	۲/۰۰۱cf
۷/۳۳۲b	۱/۱۱۷d	۰/۹۰۰a	۰/۲۷۰cd	۰/۱۷۴c	۰/۱۳۹bc	۱/۴۸۲eg	۱/۴۸۲eg
۷/۵۵۷b	۰/۶۳۰g	۰/۶۸۰b	۰/۱۹۷ef	۰/۲۵۳c	۰/۹۱۴bc	۱/۲۸۱g	۱/۲۸۱g
۵/۵۵۷b	۱/۳۲۳c	۰/۱۹۷f	۰/۲۹۰cd	۰/۸۰۲bc	۰/۸۰۲bc	۲/۵۵۹bc	۲/۵۵۹bc
۵/۵۵۳b	۰/۵۷۰g	۰/۱۸۰f	۰/۱۷۳f	۰/۰۸۶e	۰/۱۷۲ac	۱/۶۲۵dg	۱/۶۲۵dg
۶/۴۴۳b	۰/۷۸۳f	۰/۱۰۷f	۰/۱۸۰f	۰/۰۷۷e	۰/۳۰۰ab	۲/۹۲۲ab	۲/۹۲۲ab
۷/۷۷۷b	۱/۲۱۸cd	۰/۳۴۲e	۰/۴۰۱a	۰/۲۹۷vac	۰/۸۹۲bc	۲/۱۲۲ce	۲/۱۲۲ce
۶/۸۸۷b	۱/۳۰۳c	۰/۴۷۳c	۰/۳۰۵bc	۰/۱۶۰d	۰/۶۵۲a	۱/۴۴۳fg	۱/۴۴۳fg
۷/۳۳۲b	۱/۵۸۰b	۰/۴۴۷ce	۰/۳۲۳bc	۰/۳۱۲ab	۰/۱۷۰ac	۱/۶۹۴dg	۱/۶۹۴dg

منی دار می‌باشد.

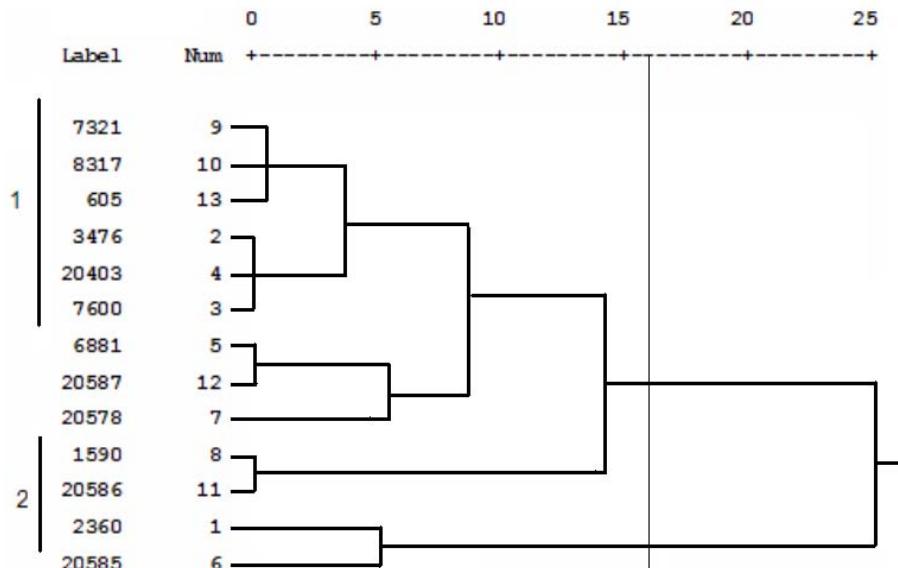
جدول ۷- ضرایب همبستگی دوگانه بین صفات اندازه‌گیری شده در اکوتیپ‌های یونجه

Na	K	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم) وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	تعداد پنجه	تعداد برگ	
					۱		
					۱	-۰/۱۲۴	
					۱	۰/۰۲۶	۰/۸۸۳**
					۱	۰/۰۳۳	۰/۳۵۸**
					۰/۲۹۷**	-۰/۰۲۸	۰/۸۹۹**
				۰/۴۰۳**	۰/۹۷۱**		
			۰/۳۲۵**	۰/۹۳۶**	۰/۱۳۸	۰/۲۲۷*	۰/۲۱۷*
		۱	-۰/۲۱۸*	-۰/۱۶۴	۰/۴۰۳**	۰/۱۱۷	۰/۴۳**
		۱	۰/۳۹۵**	۰/۴۰۳**	-۰/۳۰۵**	۰/۱۹۰	-۰/۳۲**
		۱	-۰/۳۵**	-۰/۴۰۷**			

UPGM، ژنوتیپ‌های مورد بررسی در دو گروه اصلی قرار گرفتند (شکل ۱). گروه اول شامل ژنوتیپ‌هایی بود که از لحاظ بیشتر صفات دوم ژنوتیپ‌هایی را دربر گرفت که از نظر بیشتر صفات در حد پایینی قرار داشته و نسبتاً حساس به شوری بودند. گروه اول ۹ ژنوتیپ

جدول ۸ - مقادیر ویژه، درصد واریانس مؤلفه‌ها، و واریانس تجمعی عامل‌ها در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

مؤلفه ۳	مؤلفه ۲	مؤلفه ۱	
۱/۱۲۸۹	۱/۸۹۶	۳/۶۰۵۹	مقدار ویژه
۱۲/۵	۲۱/۱	۴۰/۱	درصد واریانس
۷۳/۷	۶۱/۱	۴۰/۱	درصد تجمعی واریانس
۰/۴۵۶	-۰/۱۳	-۰/۲۸۹	ارتفاع ساقه (سانتی متر)
۰/۰۵۸	-۰/۰۰۶	-۰/۴۵۳	تعداد برگ
۰/۲۶	۰/۰۷۳	-۰/۳۵۲	تعداد پنجه
۰/۱۸۳	۰/۰۵۷	-۰/۴۴۱	وزن تر اندام هوایی (گرم)
-۰/۱۳۸	۰/۶۰۴	-۰/۰۸۹	وزن تر ریشه (گرم)
۰/۰۶۳	۰/۱۳	-۰/۴۲۲	وزن خشک اندام هوایی (گرم)
-۰/۱۹۸	۰/۶۱۸	-۰/۰۹۷	وزن خشک ریشه (گرم)
-۰/۳۵۱	-۰/۴۴۷	-۰/۳۳۵	K
۰/۷۰۹	۰/۱	۰/۲۹۲	Na



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های یونجه براساس صفات مختلف در دو شرایط شوری و بدون تنفس

می‌باشد، جمعیت‌های مورد مطالعه می‌تواند تنوع مورد نظر را برای انتخاب برترین‌ها تأمین نماید. به منظور بررسی کم و کیف اختلاف مشاهده شده بین اکوتیپ‌های یونجه از نظر صفات مختلف، مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. میانگین وزن خشک اندام هوایی براساس تمام ژنوتیپ‌ها در شرایط طبیعی ۰/۴۱۲ و در

بحث نتایج آزمایش فاکتوریل و نتایج تجزیه واریانس جداگانه مربوط به داده‌های حاصل از آزمایش در دو شرایط طبیعی و تنفس، نشان می‌دهد که اختلاف آماری معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی وجود داشت. با توجه به اینکه وجود تنفس، پایه و اساس انجام گزینش ارقام برتر و مطلوب

میزان تجمع Na و تحمل شوری از لحاظ تولید ماده خشک در گیاهان گندم (Schachtman & Munns, 1992)، برنج (Asch *et al.*, 1986; Yeo & Flowers, 2000) و سایر گیاهان (Zhu, 2001) نیز یافت شده است. همچنین شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد در سطوح بالای شوری عملکرد و بیomas به دلیل اثرات اسمزی نمک کاهش می‌یابد نه اثرات ویژه یونی (Husain *et al.*, 2003). اگرچه شواهدی نیز نشان می‌دهد که اثرات اسمزی تنش شوری نمی‌تواند سبب تفاوت در پاسخ‌های رشدی اولیه گردد (Wei *et al.*, 2003).

با تجزیه به مؤلفه‌های اصلی سه مؤلفه استخراج گردید. با توجه به سهم بیشتر مؤلفه اول در میزان تغییرات کل، این مؤلفه قادر به گزینش ژنتیکی با مقادیر بیشتری از تعداد برگ و پنجه و میزان وزن تر و خشک اندام هوایی خواهد بود که در حقیقت منجر به انتخاب ژنتیکی با قابلیت عملکرد بالاتر خواهد شد.

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که تنوع برای صفات مهم علوفه‌ای در اکوپیپ‌های یونجه جمع‌آوری شده وجود دارد. مسلماً شناسایی چنین تنوعی در ژرم‌پلاسم یونجه بومی ایران می‌تواند در مدیریت نگهداری ژرم‌پلاسم‌ها و همچنین در شناسایی نمونه‌های مناسب برای اصلاح یونجه مفید باشد، به‌طوری‌که نمونه‌های قرار گرفته در دسته اول تجزیه خوش‌ای، نمونه‌های مناسبی برای بهبود علوفه یونجه بشمار می‌آیند.

منابع مورد استفاده

- Abid, M., Qayyum A., Dasti, A.A. and Abdulwajid, R., 2001. Effect of salinity and SAR of irrigation water on yield, physiological growth parameters of Maize (*Zea mays L.*) and properties of the soil. *J. Research (Science)*, 12 (1): 26-33.
- Asch, F., Dingkuhn, M. and Droffling, K., 2000. Salinity increases CO₂ assimilation but reduces growth in field growth irrigated rice. *Plant and Soil*, 218:1-10
- Ashraf, M. and McNeilly, T., 2004. Salinity tolerance in *brassica* oilseeds. *Plant Science*, 23:157-174.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J.K., 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45:437-448.
- Cordovilla, M.D.P., Ocana, A., Ligero, F. and Lluch, C., 1995. Salinity on growth analysis and nutrient composition in four grain legumes-Rhizobium symbiosis. *Journal of Plant Nutrition*, 18: 1595-6109.

شرایط تنش ۰/۲۷۴ گرم بود. در ابتدای اعمال تنش شوری، تنش خشکی که در اثر کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه بوجود می‌آید، عامل اصلی کاهش رشد و نهایتاً کاهش وزن خشک اندام هوایی است (Asch, 2000). ماده خشک اندام هوایی صفتی است که می‌تواند تفاوت‌ها را بیشتر از سایر صفات در شرایط تنش نمایان سازد. در سایر گزارشها نیز میزان کاهش ماده خشک به عنوان شاخصی از تحمل شوری مورد استفاده قرار گرفته است (Schachtman *et al.*, 1991). (Ghavami *et al.*, 2004).

با افزایش سطح شوری طول ساقه گیاهان با روند منظم کاهش یافت. نتایج تحقیق Abid و همکاران (۲۰۰۱) مؤید همین مطلب است. در حقیقت شوری با کاهش تقسیم و جلوگیری از طویل شدن سلولی باعث کاهش ارتفاع گیاه می‌گردد (Abid *et al.*, 2001). میانگین میزان Na برای کلیه ارقام در شرایط طبیعی ۱/۲۲۸ میلی‌مolar و در شرایط تنش ۱/۱۰۳ میلی‌مolar و برای K در شرایط طبیعی ۱/۹۶۰ میلی‌مolar و در شرایط تنش ۱/۱۰۳ میلی‌مolar بود. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش سطح شوری میزان یون‌های سدیم افزایش و یون پتاسیم کاهش یافت. گیاهان در شرایط تنش شوری با اختصاص یون‌های سمی سدیم به برگ‌های مسن، گیاه را در برابر این یون‌ها محافظت می‌کنند. مزیت چنین گیاهانی این است که کارایی چرخش یون پتاسیم از برگ‌های پیر به سمت برگ‌های جوان حفظ می‌شود (Jeschke, 1985).

نتایج ضرایب همبستگی بین صفات مختلف در بیشتر حالات معنی‌دار بود که بیانگر وجود پیوستگی بین ژن‌های کنترل‌کننده صفات و یا پلیوتروپی در یونجه یکسانه در شرایط طبیعی و تنش می‌باشد.

همبستگی منفی و معنی‌داری بین ماده خشک ریشه و میزان تجمع Na در ریشه (-۰/۳۵۵) نشان می‌دهد که غلظت Na در ریشه می‌تواند به عنوان صفتی جهت ارزیابی تحمل شوری یونجه مورد استفاده قرار گیرد. همچنین این همبستگی نشان می‌دهد که دفع Na به عنوان یکی از مهمترین مکانیزم‌های تحمل شوری، میزان Na برگ را کاهش می‌دهد و باعث حفظ فعالیت فتوسنتزی بالا برای تولید ماده خشک بیشتر و همچنین تأمین آسیمیلات لازم از برگ‌ها به اندام‌های زایشی و دانه در طی مراحل قبل از گردهافشانی و پرشدن دانه و در نهایت سبب افزایش عملکرد دانه می‌گردد.

- Thesis agriculture. Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology.
- Schachtman, D.P. and Munns, R., 1992. Sodium accumulation in leaves of *Triticum* species that differ in salt tolerance. Australian Journal of Plant Physiology, 19(3):331–340.
 - Schachtman, D.P., Munns, R., and Whitecross, M.I., 1991. Variation in sodium exclusion and salt tolerance in *Triticum tauschii*. Crop Sciences, 31: 992–997.
 - Shannon, M., 1984. Breeding selection and genetics of salt tolerance. In: Staples, R. C., Toenniessen, G. H. (eds.), Salinity tolerance in plants. Strategies for Crop Improvement. Wiley, New York, pp. 300-308.
 - Soussi, M., Ocana, A. and Lluch, C., 1998. Effect of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Journal of Experimental Botany, 49: 1329-1337.
 - Tejera, N.A., Campos, R., Sanjuan, J. and Lluch, C., 2004. Nitrogenase and antioxidant enzyme activities in *Phaseolus vulgaris* nodules formed by Rhizobium tropici isogenic strains with varying tolerance to salt stress. Journal of Plant Physiology, 161: 329-338.
 - Wei, W., Bilsborrow, P.E., Hooley, P., Fincham, D., Lombi, A.E. and Forster, B.P., 2003. Salinity induced differences in growth, ion distribution and partitioning in barley between the cultivar Maythorpe and its derived mutant Golden Promise. Plant and Soil, 250: 183–191.
 - Yeo, A. and Flowers, T.J., 1986. Salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. Australian Journal of Plant Physiology, 13: 161–173.
 - F.A.O. 2000. Extent and causes of self-affected soils in participating countries.
 - Ghavami, F., Malboobi, M.A., Ghannadha, M.R., Yazdi Samadi B., Mozaffari, J. and Jafar Aghaei, M., 2004. An evaluation of salt tolerance in Iranian wheat cultivars at germination and seedling stages. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 35: 453–464.
 - Hashemi Jazi, S.A.M., 1999. Assess the potential impact of salinity on vegetative characteristics of alfalfa varieties. Iranian Congress of Agronomy, Babolsar.
 - Husain, S., Munns, R. and Condon, A.G. 2003. Effect of sodium exclusion trait on chlorophyll retention and growth of durum wheat in saline soil. Australian Journal of Agricultural Research, 54: 589–597.
 - Jeschke, W.D. and Wolf, O., 1985. Na⁺ dependent net K⁺ retranslocation in leaves of *Hordeum vulgare* cv. California Marioot and *Hordeum vulgar* cv. Villa under salt stress. Journal of Plant Physiology, 121:211-223.
 - Levitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. (second ed.) Academic Press, New York. pp. 697.
 - Munns, R. and James, R.A., 2003. Screening methods for salt tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and Soil, 253, 201–218.
 - Noble, C.L., Halloran, G.M.D. and West, W., 1984. Identification and selection for salt tolerance in Lucerne (*Medicago sativa* L.). Australian Journal of Agricultural Research, 35: 239-252.
 - Rahmani, A., 1986. Effect of salt tolerance of alfalfa cultivars and populations at different growth stages.

Evaluation of *Medicago truncatula* ecotypes for resistance to salinity

**M. Foroozanfar¹, M.R. Naghavi^{2*}, A. Peyghambari³, A. A. Jafari⁴
and S. Nasiri Kamalabadi⁵**

1-PhD, Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Tehran, I.R.Iran.

2* - Corresponding author, Prof., Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Tehran, I.R.Iran.
Email: mnaghavi@ut.ac.ir

3- Prof., Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Tehran, I.R.Iran.

4- Prof., Research Institute Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran.

5- M.Sc., Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Tehran, I.R.Iran.

Received: 18.10.2011

Accepted: 11.11.2012

Abstract

Thirteen ecotypes of *Medicago truncatula* from Iran and Australia were evaluated for salt tolerance under normal and stress conditions using a factorial experiment. In both of the conditions a high amount of diversity was observed. Results of correlation analysis showed that leaf number is one of the most important traits for increasing forage yield. Moreover, correlation between plant height and K or Na concentration was significant and negative. According to principal components analysis, the first three principal components with eigen values of more than 1 contributed 73.7% of the variability amongst the ecotypes. PC₁ positively correlated to leaf number, tillage number and shoot fresh and dry weights. Characters with the biggest values on PC₂ were root fresh weight, root dry weight and K concentration. Whereas, PC₃ was positively correlated to plant height and Na concentration. The ecotypes were grouped into two main clusters using cluster analysis. In the first cluster, tolerance and in the second cluster susceptible ecotypes were observed. The results could be used for germplasm management and also in breeding programs.

Key words: *Medicago truncatula*; Salinity tolerance, Ecotype, Sodium, Potassium.