دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ١٦، شمارهٔ ٢، صفحهٔ ١٩٧-١٨٢ (١٣٨٧)

اثر تنش خشکی ناشی از PEG در چند گونه یونجهٔ یکساله در شرایط آب‌کشت (Aquaculture)

عباس قمری‌زارع*[1]، سعید رضوانی[2] و مسیح فروتن[3]

١*- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
پست الکترونیک: ghamari-zare@fifr-oc.ir
٢- کارشناس ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، کرمان.
٣- مربی پژوهشی، گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها ومراتع کشور.

تاریخ دریافت: ١٣٨٧/١/٢٩ تاریخ پذیرش:١٣٨٧/٦/٢٤

چکیده

یونجه های یکساله (*Medicago* spp.) گیاهانی مناسب برای کشت در مناطقی هستند که دچار مشکل فرسایش خاک هستند و از آنجا که این مناطق با محدودیت منابع آبی مواجهند، مقاوم بودن این گونه ها در برابر تنش خشکی نقش مهمی در استقرار آنها ایفا می‌کند. در این تحقیق، واکنش به تنش آبی نُه جمعیت از پنج گونه یونجهٔ یکساله در شرایط آب‌کشت (aquaculture) ارزیابی شد. برای القای تنش خشکی از غلظت‌های مختلف PEG استفاده شد و برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از قبیل درصد جوانه‌زنی، وضع ظاهری برگ‌ها، طول ریشه و ساقه و میزان پرولین آزاد و قندهای محلول علوفه اندازه‌گیری شد. نتایج حاکی از این است که تیمار PEG نقش مهمی در القای تنش خشکی داشت. پارامترهای بیوشیمیایی در مقایسه با پارامترهای فنوتیپی همبستگی بیشتری با تنش خشکی نشان دادند. به نظر می رسد که ذخیرهٔ قند در سیتوپلاسم از سطوح پایین تنش آغاز می‌شود و با افزایش تنش، گیاه اقدام به ذخیره پرولین می‌نماید. برتری جمعیت ها از نظر صفات یاد شده الگوی یکنواختی نداشت به طوری که *M. truncatula* از نظر صفات بیوشیمیایی و *M. orbicularis* از نظر صفات فنوتیپی نسبت به گونه های دیگر برتری نشان دادند. احتمال دارد بهبود مقاومت به خشکی از طریق ذخیرهٔ پرولین در حین پدیدهٔ اشتقاق فیلوژنتیک در ژنوم یونجه پدید آمده باشد.

واژه‌های کلیدی: یونجه یکساله، آب کشت، تنش خشکی، پلی اتیلن گلیکول

مقدمه

گونه‌های یکسالهٔ یونجه (*Medicago* spp.) در دهه های اخیر به دلیل ویژگی‌های خاص آن در زراعت‌های دیم و مرتعداری مورد توجه واقع شده است. جنس *Medicago*، ٣٤ گونه یکساله دارد که طبق بررسی‌های انجام شده طی دهه‌های ٦٠ و ٧٠ خورشیدی، حدود ١٤ گونهٔ آن در ایران گزارش شده است (سندگل و ملک‌پور، ١٣٧٣). دامنهٔ پراکنش این گونه‌ها، مناطق خزری در شمال ایران، مناطق مدیترانه‌ای فلات مرکزی و غرب ایران و نواحی ساحلی خلیج فارس و دریای عمان در جنوب و جنوب غرب را در بر می‌گیرد. مهم‌ترین ویژگی این جنس، توانایی تثبیت نیتروژن در زمین است که علاوه

بر نقش مهمی که در تناوب‌های زراعی دارد، می‌تواند در برنامه‌های استقرار درختان و بوته‌ها نیز مفید باشد. بر همین اساس ترویج زراعت یونجهٔ یکساله در ایران، خواه به صورت کشت در آیش‌های دیمکاری و خواه به صورت کشت بین ردیف‌های درختان مورد توجه است. در اقلیم‌های گرم، کشت یونجهٔ یکساله به عنوان جایگزین آیش تابستانه برای حفاظت خاک در برابر فرسایش، جلوگیری از گسترش علف های هرز و افزایش حاصلخیزی خاک توصیه شده است (Badaruddin & ، Rumbaugh & Johnson, 1986 Meyer, 1990). مطالعات متعددی در زمینه توسعهٔ کشت یونجهٔ یکساله شامل مطالعات سازگاری گونه‌ها در مناطق مختلف از نظر میزان تولید علوفه خشک (اکبرزاده و سالاری، ۱۳۶۸)، سازگاری با کشتهای مخلوط (حیدری شریف آباد، ۱۳۶۷)، برخی ویژگیهای بهزراعی (خلیلی، ۱۳۷۰، باقری، ۱۳۸۰)، ویژگیهای ژنتیکی(میرزایی ندوشن، ۱۳۷۹ و شریعت و همکاران، ۱۳۸۰a و ۱۳۸۰b) و همچنین تأثیر باکتری‌های همزیست یونجهٔ یکساله (حیدری شریف آباد و ایران‌منش، ۱۳۷۵، دشتی، ۱۳۷۵) در اقلیم‌های مختلف ایران انجام شده است.

با توجه به اینکه کشت گونه‌های یکسالهٔ یونجه در مراتع یا دیمزارها صورت می‌گیرد، محدودیت منابع آبی از مواردی است که تاثیر بسزایی بر عملکرد آنها می‌گذارد. با وجودی که بر پایه برخی گزارش‌ها، یونجهٔ یکساله در مناطق با بارندگی کمتر از ۲۵۰ میلیمتر در سال نیز کشت شده (Brahim & Smith, 1993)، در ایران کشت یونجهٔ یکساله در مناطقی توصیه شده که حداقل ۲۰۰ میلیمتر در سال بارندگی داشته باشند.

در روش‌های متعارف بررسی مقاومت به خشکی، گیاهان آزمایشی در شرایط مزرعه‌ای با استفاده از کنترل دوره و میزان آبیاری مورد مطالعه قرار می‌گیرند (به عنوان نمونه Clifford و همکاران، ۱۹۹۸، Specht و همکاران، ۲۰۰۱). در چنین شرایطی عوامل دیگری نظیر شرایط اقلیمی و پدیده‌های جوی (بارش یا خشکسالی‌های غیر مترقبه) می‌تواند بر داده‌ها تأثیر گذارد و محقق ناگزیر از تکرار آزمون ها در زمان و مکان های مختلف خواهد بود. استفاده از شرایط محیطی کنترل شده این امکان را فراهم می‌آورد که عوامل دارای اثرات ناخواسته را حذف و منابع تغییر را به عوامل تحت کنترل محدود کرد. از سوی دیگر، مطالعهٔ گیاه در شرایط کنترل شدهٔ آزمایشگاهی مستلزم یافتن راهی برای شبیه‌سازی شرایط طبیعی است، به طوری که مثلاً اعمال تنش در شرایط آزمایشگاهی، تا حد امکان ساز و کاری مشابه تنش‌های طبیعی داشته باشد. پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) با وجود محلول بودن در آب و میل ترکیبی کم با محیط، به دلیل بزرگی ملکول آن و توانایی ایجاد فشار اسمزی منفی، روش مناسبی برای القای مصنوعی و یکنواخت خشکی در شرایط آزمایشگاهی است و لذا در مطالعات متعددی به عنوان عامل ایجاد تنش خشکی استفاده شده است (برای نمونه Rodriguez و همکاران، ۲۰۰۴، Turkan و همکاران، ۲۰۰۵، Vajrabhaya و همکاران، ۲۰۰۱، Zhu و همکاران، ۲۰۰۶).

در ایران مطالعات محدودی در زمینه اثرات کم آبی بر یونجه های یکساله انجام شده (پهلوان‌پورفردجهرمی، ۱۳۷۶) که عمدتاً ارزیابی گیاه در برابر تنش بر پایهٔ صفات فنوتیپی و در گلخانه یا مزرعه انجام پذیرفته است. تحقیق حاضر به بررسی اثرات تنش خشکی بر صفات فنوتیپی و بیوشیمیایی در چند گونه از یونجه‌های یکساله پرداخته

است. از آنجا که در مطالعات مزرعه‌ای و صحرایی، عوامل محیطی خارج از کنترل بر جمع‌آوری داده‌ها اثر گذاشته و خطای آزمایشی را بالا می‌برد، در این تحقیق برای یکسان نگهداشتن اثر عوامل محیطی، مواد آزمایشی از محیط کنترل شده آب‌کشت (aquaculture) برای نگهداری مواد آزمایشی استفاده شد.

مواد و روشها

مادهٔ آزمایشی مورد استفاده، ۹ جمعیت از پنج گونهٔ یکسالهٔ جنس *Medicago* به این شرح بود: ۱ و ۲) *M. truncatula* جمع آوری شده از اهواز و گرگان. ۳ و ٤) *M. orbicularis* جمع‌آوری شده از گیلان‌غرب و گرگان. ۵ و ٦) *M. rigidula* جمع‌آوری شده از کردستان و گرگان. ۷ و ۸) *M. radiata* جمع‌آوری شده از ارومیه و اسلام‌آباد غرب. ۹) *M. polymorpha* از سانتیاگو، شیلی.

بذرها ابتدا با آسیاب برقی از غلاف جدا شده و سطح خارجی آنها جهت رفع سختی پوسته بذر و تسهیل در جوانه‌زنی با کاغذ سنباده خراش داده شد. سپس بذرها ابتدا به مدت ۱۰ ثانیه در الکل ۹۰٪ و پس از آن ۳ دقیقه در محلول ۲٪ کلرید جیوه ضدعفونی شده و ۵ الی ٦ بار با آب مقطر شستشو داده شدند.

بذرها پس از شستشو در آب مقطر، درون پتری دیش های استریل شده که کف آن با کاغذ صافی استریل پوشانده شده بود قرار گرفتند. آزمایش بر اساس یک طرح کرت‌های خرد شده (۵ سطح تنش در کرت اصلی و جمعیت‌ها در کرت فرعی) با سه تکرار بود. سطوح تنش به شرح زیر بود: تیمار شاهد (مرطوب شدن با محلول هوگلند)، تیمار فشار اسمزی ۳- بار (مرطوب شدن با محلول هوگلند بعلاوه ۱۳۸g/l پلی‌اتیلن گلیکول ٦۰۰۰)، تیمار فشار اسمزی ٦- بار (مرطوب شدن با محلول هوگلند بعلاوه ۱۸۹g/l پلی‌اتیلن گلیکول ٦۰۰۰)، تیمار فشار اسمزی ۹- بار (مرطوب شدن با محلول هوگلند بعلاوه ۲۲۲g/l پلی‌اتیلن گلیکول ٦۰۰۰)، تیمار فشار اسمزی ۱۲- بار (مرطوب شدن با محلول هوگلند بعلاوه ۲۵۱g/l پلی‌اتیلن گلیکول ٦۰۰۰). رابطهٔ بین غلظت PEG6000 و فشار اسمزی بر اساس یافته های Fisher (۱۹۸۵) ذکر شده است. سرعت جوانه‌زنی به صورت نسبت تعداد بذور جوانه زده در هر روز به شماره همان روز محاسبه شد.

گیاهچه های تا مرحله دو برگی (۱۱ روز پس از کشت) در گلدان های پلاستیکی محتوی شن کوارتز شسته و استریل شده (در دمای ۸۰°C به مدت ۲٤ ساعت) در اتاق رشد (دما ۲۰°C، روشنایی ۱۲ ساعت در شبانه روز) تولید شدند. طی این مدت آبیاری روزی دو بار با محلول هوگلند (جدول ۱) انجام شد. گیاهچه‌های دو برگی در لوله‌های اپندورفی که درپوش و انتهای آن قیچی شده بود به وسیلهٔ پنبه تثبیت شده و به مدت ۳۹ روز در تانک‌های آب‌کشت حاوی محلول هوگلند استقرار یافتند. سپس تیمارهای خشکی در قالب طرح آزمایشی مورد نظر با دو فاکتور (۵ سطح تنش و ۹ جمعیت از گونه‌های یونجه یکساله) با محلول هوگلند همراه با سطوح مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول اعمال شدند.

در دو نوبت (۲۲ روز و ۲٦ روز بعد از اعمال تنش) وضع ظاهری برگ ها و قسمت هوایی بررسی و بر اساس جدول ۲ به هر نشاء نمره داده شد. در فاصله ۳۷ تا ۳۹ روز بعد از اعمال تنش، نمونه‌ها از اپندورف خارج شده و طول ریشه و ارتفاع ساقه در آنها اندازه‌گیری شد. استحصال عصارهٔ گیاهی، اندازه‌گیری پرولین آزاد و تعیین

قندهای محلول بر اساس روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) با احتساب تغییرات اعمال شده توسط عبادی‌خزینه‌قدیم (۱۳۷۸) انجام پذیرفت.

داده‌های خام حاصل توسط Excel ذخیره شدند و نمودارها به کمک همین نرم‌افزار تهیه شد. محاسبات تجزیه واریانس (ANOVA) و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) به کمک نرم‌افزار SAS انجام شد. داده‌های به دست آمده از آزمایش جوانه‌زنی بذور پس از تصحیح به کمک روش ANOVA در قالب طرح کرت‌های خرد شده تحلیل شد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس روش Sheidai و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به درصد جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۱) بین جمعیت‌ها نشان داد. جمعیت‌های مورد مطالعهٔ گونهٔ *M. rigidula* (به ترتیب ٦٥٪ و ٥٦٪ برای کردستان و گرگان) و پس از آن دو جمعیت از *M. truncatula* (به ترتیب ٥٦٪ و ٤٧٪ برای گرگان و اهواز) نسبت به سایر گونه ها جوانه زنی بالاتری داشتند (شکل ۱). مقایسه درصد جوانه زنی در داخل تیمارهای تنش خشکی نیز مؤید بالاتربودن درصد جوانه‌زنی جمعیت‌های *M. rigidula* کردستان بود (شکل ۲). از سوی دیگر، جمعیت‌های *M. radiata* ارومیه و *M. polymorpha* نیز پایین‌ترین میانگین درصد جوانه‌زنی را نشان دادند. با افزایش شدت تنش، افت درصد جوانه‌زنی در گونهٔ *M. rigidula* کردستان کمترین مقدار بود و پس از آن گونه‌های *M. truncatula* و *M. orbicularis* از گیلانغرب کمترین مقدار افت تنش را داشتند (شکل ۲). همچنین میانگین درصد جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) بین سطوح مختلف تنش خشکی را نشان داد به طوری که با افزایش فشار اسمزی، میانگین درصد جوانه‌زنی نیز کاهش یافت (شکل ۳).

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای صفات اندازه‌گیری شده، حاکی از تنوع واکنش جمعیت‌های مورد مطالعه به شرایط تنش بود، به طوری که به استثنای گونه‌های *M. orbicularis* و *M. polymorpha* بقیه گونه‌ها در گروه‌های یکسان قرار نگرفتند (شکل ٤). مولفه‌های اصلی اول تا سوم به ترتیب ٤٣٪، ۳۰٪ و ١٤٪ (در مجموع ۸۷٪) تغییرات مشاهده شده را توجیه کردند (جدول ۳). تأثیرپذیری مؤلفه‌های اصلی از صفات ارزیابی شده کاملاً متنوع بود به طوری که در مؤلفهٔ اول بیشترین ضریب تغییرات مثبت متعلق به قندهای محلول و پرولین آزاد (به ترتیب ۰/٤۰ و ۰/۳۹) بود. در مولفهٔ دوم نمرهٔ سلامت گیاه در نوبت دوم و پس از آن نمرهٔ سلامت گیاه در نوبت اول بزرگترین ضریب‌ها را داشتند و برای مؤلفهٔ اصلی سوم پرولین آزاد و ارتفاع ساقه حائز بزرگترین ضرایب بودند. در مجموع، صفات مورد بررسی همبستگی معنی‌داری با هم نشان ندادند به طوری که بالاترین ضریب همبستگی (بین طول ریشه و میزان قندهای محلول) برابر ۰/۷٤- بود (جدول ۵).

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس جداگانه هر صفت، گونه *M. polymorpha* دارای بیشترین طول ساقه، گونه‌های *M. orbicularis* مورد مطالعه دارای بیشترین طول ریشه، گونه *M. truncatula* اهواز دارای بالاترین میزان پرولین آزاد و گونه *M. truncatula* گرگان دارای بیشترین قند محلول بودند (جدول ٤). نمودارهای تغییرات شدت بروز صفات اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مورد مطالعه، حاکی از افزایش تقریباً

یکنواخت میزان پرولین آزاد با شدت تنش بود. این تغییرات در مورد سایر صفات یکنواختی کمتری داشت هرچند روند تغییرات با افزایش شدت تنش برای صفات ارتفاع ساقه و طول ریشه، کاهش و برای قندهای محلول، افزایش نشان داد (شکل ۵).

در مقایسهٔ سطوح مختلف تنش (پلی اتیلن گلیکول)، تفاوت بین سطوح کاملاً معنی دار بود به طوری که میانگین سطوح تنش برای همه صفات در سطح ۱٪ معنی دار بود و آزمون دانکن هر سطح تنش را در یک گروه قرار داد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز نشان داد که مؤلفهٔ اول به تنهایی ۹۱٪ تغییرات را توجیه می‌کند و سهم سطوح مختلف تنش در مؤلفهٔ اصلی اول با افزایش سطح تنش (غلظت پلی اتیلن گلیکول) کاهش می‌یابد.

بحث

صفت هایی که برای ارزیابی جمعیت‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفتند را می‌توان به سه دسته تقسیم کرد: دستهٔ اول (طول ریشه و ارتفاع ساقه) صفاتی فنوتیپی هستند که به صورت کمّی بیان می‌شوند. دستهٔ دوم (میزان پرولین آزاد و قندهای محلول) صفاتی هستند که با روشهای شیمیایی اندازه‌گیری شده‌اند. دستهٔ سوم (وضع ظاهری برگ‌ها در حین تنش، در دو مرحله از رشد) در عین فنوتیپی بودن به صورت مشاهده ای (نمره‌دهی) بیان شده‌اند.

الگوی بروز این صفات، به خصوص صفات گروه‌های اول و دوم، در سطوح مخالف تنش و نیز جمعیت‌های مورد مطالعه تفاوتهای قابل توجهی دارد. علاوه بر بیشتر بودن سهم صفات گروه دوم (پرولین و قندهای محلول) نسبت به گروه اول (ارتفاع ساقه و طول ریشه) در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، مقایسهٔ نمودار تغییرات صفات گروه اول و دوم بر حسب سطح تنش نشان می‌دهد در حالی که صفات گروه دوم همبستگی بالایی با سطوح تنش دارند، تغییرات صفات گروه اول تا حدی نوسان‌دار و نامنظم است. این مشاهده‌ها، این فرض را تقویت می‌کند که ارتفاع ساقه و طول ریشه در تحقیق حاضر، علاوه بر تنش خشکی از عوامل دیگری نیز تأثیر پذیرفته‌اند. به عنوان مثال میزان نور و میزان ازت از جمله عواملی هستند که می‌توانند بر ارتفاع ساقه تأثیر بگذارند (خلیلی، ۱۳۷۰). همچنین عواملی نظیر سهولت دسترسی به آب و دما بر طول ریشه تأثیر می‌گذارد (Lyons و همکاران، ۲۰۰۷، Malcolm و همکاران، ۲۰۰٤). از سوی دیگر، صفات دستهٔ دوم (پرولین و قندهای محلول) به طور اختصاصی از تنش خشکی (و نیز شوری) تأثیر گرفته و شرایط محیطی کمتر بر آن اثر گذاشته است. پرولین به دلیل حلالیت بالا در آب، در شرایطی که سلول با کم آبی مواجه می‌شود با غلظت بالای خود باعث کاهش پتانسیل اسمزی شده (Aspinal & Paleg, 1980) و نیز به عنوان محافظ غشای سلولی در برابر غلظت بالای یون سدیم عمل می‌کند (Vajrabhaya و همکاران، ۲۰۰۱). از سوی دیگر برخی ترکیبات قندی با تجمع در سیتوپلاسم سلول باعث افزایش فشار اسمزی و ذخیرهٔ یون سدیم در واکوئل‌ها می‌شود (Bohnert و همکاران، ۱۹۹۵). همچنین تجمع قندها در واکوئل باعث جلوگیری از نوسان پتانسیل اسمزی در سلول می‌شود (Thomas, 1997). لذا تغییرات مقدار این مواد در سلول به عنوان یک شاخص واکنش گیاه نسبت به شرایط تنش تلقی می‌شود.

بررسی ضریب همبستگی بین صفات مختلف در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، حاکی از پایین بودن همبستگی

بین صفات و استقلال آنها از هم است. بیشترین ضریب همبستگی بین طول ریشه و میزان قند محلول و نیز بین طول ریشه و میزان پرولین آزاد مشاهده می‌شود. Noland و همکاران (۱۹۹۷) همبستگی منفی مشابهی را بین طول ریشه و میزان هیدروکربن آن گزارش کرده‌اند. آنها معتقدند که ریشه در شرایط تنش شروع به مصرف ذخایر هیدروکربن خود می‌کند. Sanchez و همکاران (۲۰۰۵) نیز یافتهٔ مشابهی را برای ارتباط میزان پرولین و طول ریشه گزارش کرده‌اند. با وجودی که احتمال دارد در تحقیق حاضر این سازوکار، علت بالاتر بودن همبستگی بین طول ریشه و میزان قند محلول و پرولین آزاد نسبت به سایر صفتها باشد، باید توجه داشت که برای اثبات چنین رابطه‌ای، باید میزان پرولین آزاد و قندهای محلول تنها در بافت ریشه (و نه در کل گیاه) ملاک بررسی باشد. از آنجا که در تحقیق حاضر میزان پرولین آزاد و قندهای محلول در کل گیاه اندازه‌گیری شده، خطاهای احتمالی مؤثر بر میزان پرولین آزاد و قندهای محلول در ساقه و برگ، بررسی وجود یک رابطهٔ دقیق بین طول ریشه و میزان پرولین آزاد و قندهای محلول را ناممکن می‌کند.

مورد قابل توجه دیگر در این پژوهش، تفاوت در الگوی تغییر میزان قندهای محلول و پرولین آزاد است. با افزایش تنش، پرولین آزاد در تمام جمعیت‌های مورد مطالعه افزایشی تدریجی داشته و تنها برخی جمعیت‌ها در سطوح بالای تنش افزایشی ناگهانی را نشان دادند. این در حالی است که میزان قندهای محلول بیشتر جمعیت های مورد بررسی، علیرغم تقریباً یکسان بودن در شرایط بدون تنش (شاهد)، حتی در سطوح پایین تنش هم تفاوت چشمگیری را بین جمعیت‌ها نشان دادند. بر این اساس چنین به نظر می‌آید که با افزایش تدریجی تنش، سلول گیاه در ابتدا شروع به ذخیرهٔ قند و سپس با شدیدتر شدن تنش اقدام به ذخیرهٔ پرولین در غشای سلولی کرده است. به بیان دیگر، تجمع پرولین در غشای سلولی یک سازوکار اضطراری برای تحمل خشکی به شمار می‌رود. نظیر این سازوکار در بروز مقاومت به خشکی در پنبه (Culter & Rains, 1978) و همچنین مقاومت به شوری در صنوبر نیز مشاهده شده است (Ottow و همکاران، ۲۰۰۵). در عین حال باید توجه داشت که در تحقیق حاضر جمعیت‌های محدودی مورد بررسی قرار گرفته و پدیدهٔ مزبور تنها در برخی از آنها مشاهده شده است، بنابراین برای تأیید یک نتیجهٔ کلی باید گسترهٔ وسیع‌تری از جمعیت‌ها و در صورت لزوم با تکرارهای بیشتر بررسی شود. همچنین باید توجه داشت که علیرغم رایج بودن استفاده از PEG در مطالعات مربوط به تنش خشکی، بررسی جمعیت‌ها در شرایط مزرعه‌ای و با اعمال تیمارهایی مشابه شرایط طبیعی در زمان‌ها و مکان‌های مختلف برای نتیجه‌گیری‌های نهایی لازم است؛ ضمن اینکه توجه به این نکته لازم است که واکنش گیاه در شرایط طبیعی تنها از سازوکارهای سلولی تأثیر نمی‌گیرد و عوامل ناشناخته یا خارج از کنترل نیز بر آن مؤثر است.

بررسی نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی حاکی از این است که در گونه‌هایی که از دو منطقه جمع آوری شده، سهم مؤلفهٔ اصلی اول برای افراد یک گونه ولی از دو منطقه تقریباً یکسان است. از آنجا که مؤلفهٔ اصلی اول بیشتر از میزان قندهای محلول و پرولین آزاد تأثیر پذیرفته و نمونه‌ها نیز تحت شرایط کنترل شده رشد کرده‌اند، ناچیز بودن تفاوت اثر زیستگاه دور از ذهن نمی‌نماید. این تفاوت تنها در دو گونهٔ *M. radiata* بررسی شده چشمگیر است که دلیل آن روشن نیست. نکته دیگری که در

واکنش جمعیت‌های مورد مطالعه به تنش خشکی قابل تأمل است، تنوع این واکنش‌ها است که ضرایب همبستگی پایین بین صفات در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز این امر را تأیید می‌کند. به عنوان نمونه، مشاهده می‌شود گونهٔ *M. orbicularis* در مقایسه با گونه *M. truncatula* در شرایط تنش ریشه و ساقهٔ بلندتری تولید کرده اما ذخیرهٔ قندهای محلول و پرولین آزاد آن کمتر است. مقایسهٔ کلی نتیجهٔ آزمون‌های تجزیه واریانس آزمون رشد در شرایط تنش و آزمون درصد جوانه‌زنی نشان می‌دهد که دو گونهٔ *M. truncatula* و *M. rigidula* در سطح سلولی مقاومت بهتری در برابر خشکی نشان داده‌اند و این در حالی است که گونه‌های *M. polymorpha* و *M. orbicularis* ضمن پایین بودن مقاومت سلولی به خشکی، مادهٔ خشک بیشتری در شرایط تنش تولید کرده‌اند. همچنین در بین گونه‌های مطالعه شده، *M. radiata* کمترین مقاومت به خشکی را نشان داده است. از آنجا که تنش اعمال شده تحت شرایط کنترل شده بوده، تفاوت مشاهده شده در بین گونه‌ها را نمی‌توان چندان متأثر از زیستگاه طبیعی دانست و تنوع ژنومی نقش مهم‌تری در آن ایفا می‌کند. Bena (۲۰۰۱) با مقایسهٔ بخشی از توالی ژنتیکی ۵۷ گونهٔ جنس *Medicago*، ارتباط فیلوژنتیک آنها را ترسیم کرده که ارتباط گونه‌های مورد مطالعه به‌شرح دندروگرام شکل ٦ می‌باشد. طبق این نمودار، ساختار ژنتیکی گونهٔ *M. radiata* نسبت به سایر گونه‌ها مدت طولانی‌تری بدون تغییر مانده و گونه‌های *M. orbicularis* و *M. polymorpha* در رده‌های بعدی اشتقاق ژنتیکی قرار دارند و متأخرترین اشتقاق ژنتیکی متعلق به دو گونهٔ *M. truncatula* و *M. rigidula* است. گونه *M. truncatula* در مقایسه با سایر گونه‌های مورد مطالعه، بالاترین میزان قندهای محلول و پرولین آزاد را در شرایط تنش در خود ذخیره کرده، و این احتمال را تقویت می‌کند که بهبود سازوکار مقاومت به خشکی، طی فرایند اشتقاق ژنتیکی کسب شده باشد. به همین ترتیب و با توجه به درصد جوانه‌زنی گونه‌های بررسی شده، به‌نظر می‌رسد که اشتقاق ژنتیکی بر بهبود جوانه‌زنی گونه‌های *M. rigidula* و *M. truncatula* نسبت به سه گونهٔ دیگر نیز تأثیر گذاشته باشد. شایان ذکر است که نتایج موجود تنها احتمال وجود ارتباط بین مقاومت به خشکی و تکامل فیلوژنتیکی را تقویت می‌کند و برای اثبات وجود چنین سازوکارهایی بررسی‌های ژنتیک ملکولی ضروری است.

پهلوان‌پور (۱۳۷٦) در مطالعهٔ خود بر روی تعدادی از گونه‌های *Medicago* ، (از جمله گونه‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر) به بررسی اثر تنش خشکی بر پارامترهای رشد پرداخته است. اگرچه در نگاه اول به‌نظر می‌رسد نتایج ارزیابی‌های تحقیق یاد شده در مورد مقاومت *M. truncatula* تفاوت چشمگیری با تحقیق حاضر دارد، توجه به این نکته ضروری است که در آن تحقیق، پارامترهای بیوشیمیایی (پرولین و قندهای محلول) در ارزیابی ها لحاظ نشده و نتیجه‌گیری تنها بر اساس مؤلفه‌های رشد صورت گرفته بود. این در حالی است که در مواردی که در هر دو تحقیق مؤلفه‌های مشابهی برای ارزیابی استفاده شده بود، نتایج تا حدودی با هم همخوانی داشتند (مانند درصد بالای جوانه‌زنی گونهٔ *M. rigidula* در شرایط تنش). در عین حال در مقایسهٔ نتایج این دو تحقیق باید به تفاوت‌های شرایط محیطی و ابزارهای آزمایش هم توجه داشت.

دانستن نوع واکنش گیاه به خشکی، می‌تواند در تصمیم‌گیری برای انتخاب گونهٔ مناسب و به تبع آن بهبود

کاربری زمین مؤثر باشد. از آنجا که یونجه می‌تواند به دو منظور (تولید علوفه و حفاظت خاک) کشت شود، توجه به واکنش آن در برابر خشکی می‌تواند هدف کشت را به‌نحو مطلوب‌تری تأمین کند. چنانچه زمین زیر کشت یونجه برای چرای دام استفاده شود، گونه‌هایی که در شرایط تنش مادهٔ خشک بیشتر داشته باشند برای کشت مناسب‌تر خواهند بود. اما از سوی دیگر اگر هدف اصلی کشت یونجه، جلوگیری از فرسایش خاک باشد، گونه‌هایی که در شرایط تنش جوانه‌زنی بیشتری داشته باشند یا در سطح سلولی تنش خشکی را بهتر تحمل کنند به دلیل توانایی بیشتر در استقرار، گونه‌های مناسب‌تری خواهند بود. البته باید توجه داشت که در انتخاب چنین رویکردی سایر مؤلفه‌های سازگاری گونه با محیط نیز باید مد نظر قرار گیرد؛ و چنانچه بنا باشد از راهکار به‌کار گرفته شده در تحقیق حاضر برای انتخاب گونهٔ مناسب استفاده شود، این راهکار باید در قالب برنامه‌ای اجرا شود که سایر مؤلفه‌های سازگاری (مانند شرایط اقلیمی، خاک، آفت‌ها و بیماری‌ها) نیز در آن لحاظ شده باشند.

جدول ۱: محلول هوگلند به‌کار رفته برای آبیاری نمونه‌های مورد استفاده برای آزمون تنش خشکی و جوانه‌زنی (از Hoagland و همکاران، ۱۹۵۰ با تغییرات)

ماده شیمیایی	مقدار (mg/l)
$MgSO_4.7H_2O$	۲٤/٦۳
KH_2PO_4	۱/۷
$Na_2Mo_4.2H_2O$	۰/٦
$CuSO_4.2H_2O$	۰/٤
$ZnSO_4.7H_2O$	۰/۱۱
$MnCl_2.2H_2O$	۰/۹
H_3BO_3	۱/٤۳
EDTA	۳
$FeSO_4.7H_2O$	۲٤/٤۹
K_2SO_4	۲۱/۷۷
$CaCO_3.2H_2O$	٤۳

جدول ۲: مقیاس نمره‌دهی به وضع ظاهری جمعیت‌های یونجه تحت آزمایش تنش خشکی در ۷۲ روز و ۷٦ روز بعد از کشت (عدد کوچکتر نشانه بروز شدیدتر صفت است).

توصیف ظاهری	نمره
پژمردگی کامل	۱، ۲، ۳
برگها دچار پیچیدگی شده و دمبرگها پژمرده شده‌اند	٤، ۵، ٦
برگها دچار پیچیدگی شده ولی دمبرگها هنوز شادابند	۷، ۸، ۹
برگها شروع به پیچیدن کرده	۱۰، ۱۱، ۱۲
بدون تنش	۱۳، ۱٤، ۱۵

جدول ۳: مقادیر ویژه مؤلفه‌های اصلی اول تا سوم و سهم صفات اندازه‌گیری شده در هریک از مولفه‌ها در مقایسه جمعیت‌های یونجه یکساله در تنش خشکی

		مولفه اول	مولفه دوم	مولفه سوم
مقدار ویژه		۲/٦۰	۱/۸۲	۰/۸۱
مقدار نسبی		۰/٤۳	۰/۳۰	۰/۱٤
مقدار تجمعی		۰/٤۳	۰/۷٤	۰/۸۷
صفات اندازه‌گیری شده	سلامت گیاه ۱	۰/۳٤	۰/۵۱	۰/۲۲
	سلامت گیاه ۲	۰/۱۷	۰/٦۳	۰/۰۲
	ارتفاع ساقه	-۰/٤٦	-۰/۲٦	۰/٤۲
	طول ریشه	-۰/۵۷	۰/۲٦	-۰/۰۲
	پرولین آزاد	۰/۳۹	-۰/۲٦	۰/۷٤
	قندهای محلول	۰/٤۰	-۰/۳۸	-۰/٤۸

جدول ٤: میانگین بروز صفتهای اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مورد مطالعهٔ یونجهٔ یکساله، به همراه دسته‌بندی بر اساس آزمون دانکن. (کمیت‌های مشخص شده با حروف یکسان فاقد تفاوت معنی‌دار آماری هستند).

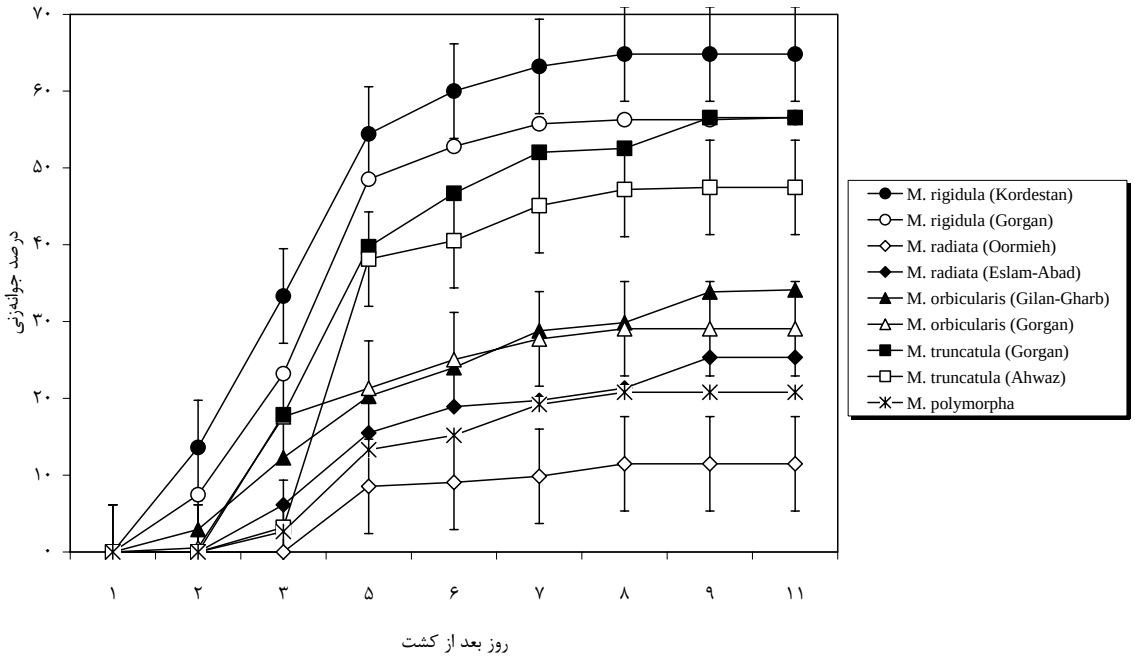
جمعیت	ارتفاع ساقه (cm)		طول ریشه (cm)		پرولین آزاد[۲] (µmol/g)		قندهای محلول[۱] (mg/g)	
M. orbicularis (Gorgan)	A	۱۰/۸۰	A	۲۸/۸۰	G	۰/۲۲	F	۰/۳۷
M. orbicularis (Gilan-Gharb)	A	۱۰/٦۰	A	۲۷/۲۲	F	۰/۲۳	H	۰/۳۱
M. polymorpha	A	۱۱/٦۵	B	۲٤/۲٦	G	۰/۲۲	D	۰/٤٦
M. radiata (Eslam-Abad)	D	۵/۳۱	C	۲۱/۲۰	D	۰/۲۷	E	۰/٤٤
M. radiata (Oormieh)	D	۵/۳۸	C	۱۸/۹۹	E	۰/۲٦	C	۰/۵۲
M. rigidula (Gorgan)	B	۹/۲۷	B	۲۳/۷۰	B	۰/۳۰	I	۰/۲٦
M. rigidula (Kordestan)	B	۸/۷۸	B	۲۲/۹۸	C	۰/۲۸	G	۰/۳٤
M. truncatula (Ahwaz)	A	۱۰/٦٦	D	۱۸/۲۹	A	۰/۳٦	B	۰/۵٤
M. truncatula (Gorgan)	C	۷/٦۷	C	۱۹/٦۹	C	۰/۲۸	A	۰/۵۷

۱) نسبت به وزن خشک

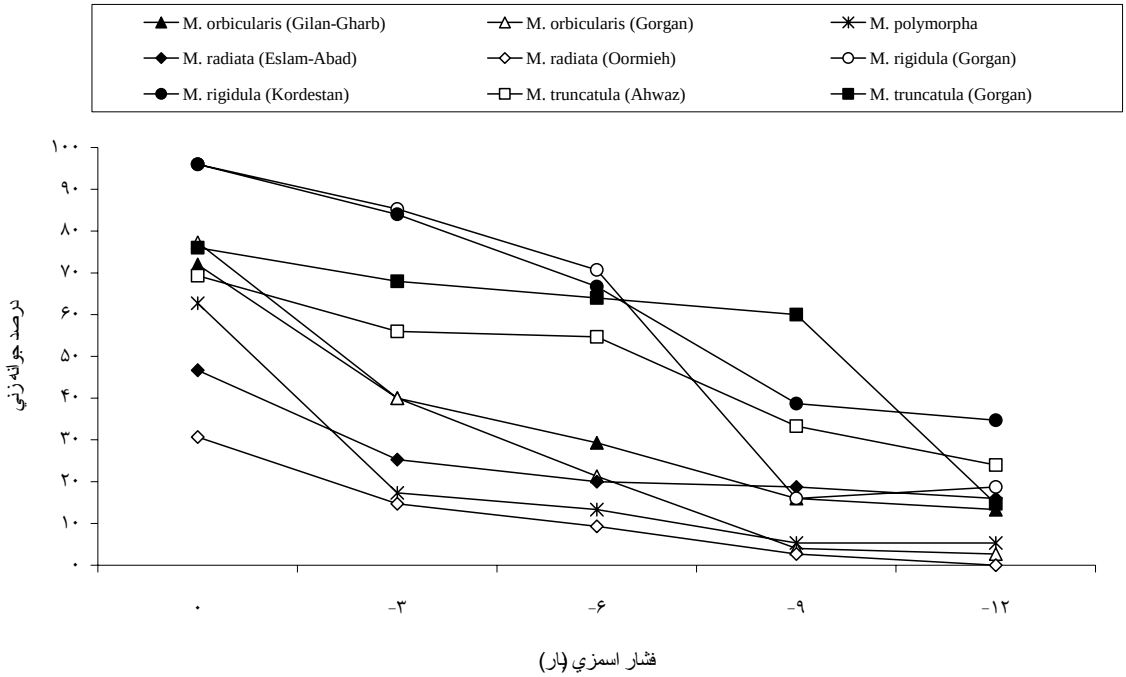
۲) نسبت به وزن تر

جدول ۵ : ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در ارزیابی مقاومت گونه‌های یونجهٔ یکسالهٔ مورد مطالعه

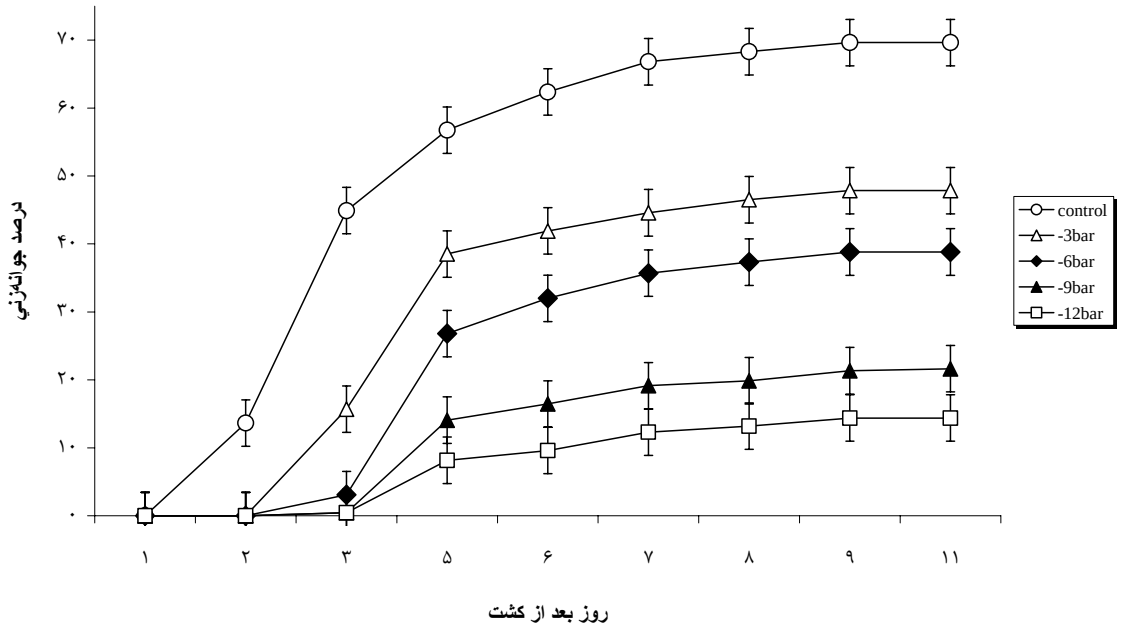
	قندهای محلول	پرولین آزاد	طول ریشه	ارتفاع ساقه	سلامت گیاه ۲	سلامت گیاه ۱
سلامت گیاه ۱	-۰/۰۳	-۰/۱۷	-۰/۲۷	-۰/۴۹	۰/۶۲	۱/۰۰
سلامت گیاه ۲	-۰/۱۸	-۰/۰۷	۰/۰۶	-۰/۴۲	۱/۰۰	
ارتفاع ساقه	-۰/۳۱	-۰/۱۳	۰/۵۶	۱/۰۰		
طول ریشه	-۰/۷۴	-۰/۷۱	۱/۰۰			
پرولین آزاد	۰/۲۹	۱/۰۰				
قندهای محلول	۱/۰۰					



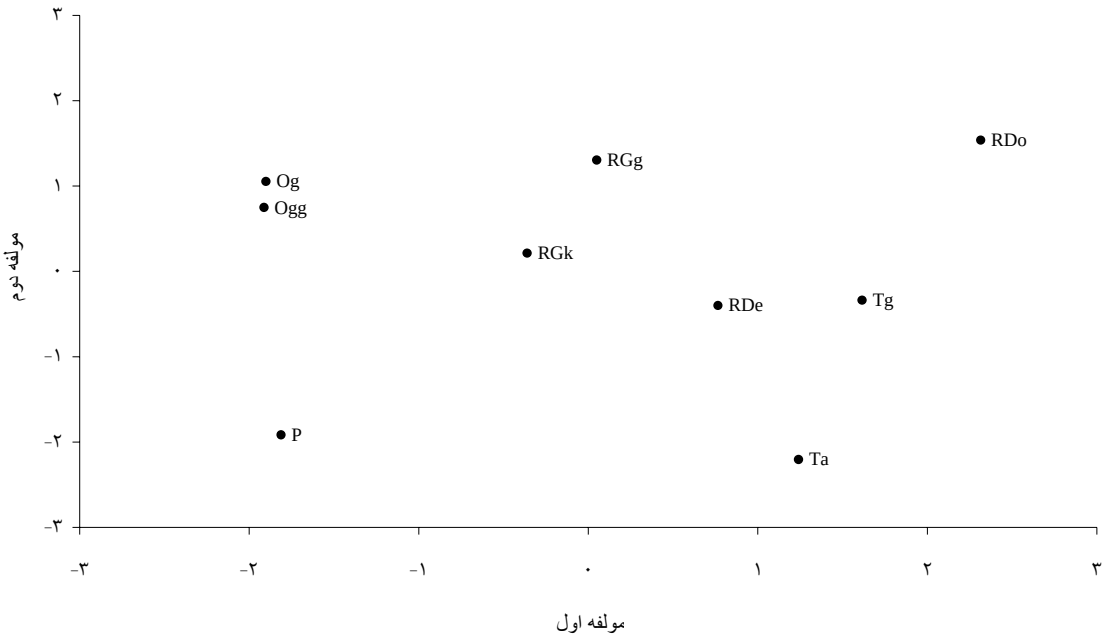
شکل ۱: میانگین درصد جوانه‌زنی بذر جمعیت‌های یونجهٔ یکساله به تفکیک جمعیت طی ۱۱ روز بعد از کشت. (خط‌های عمودی معرف محدودهٔ تفاوت معنی‌دار آزمون دانکن در سطح ۵٪ است).



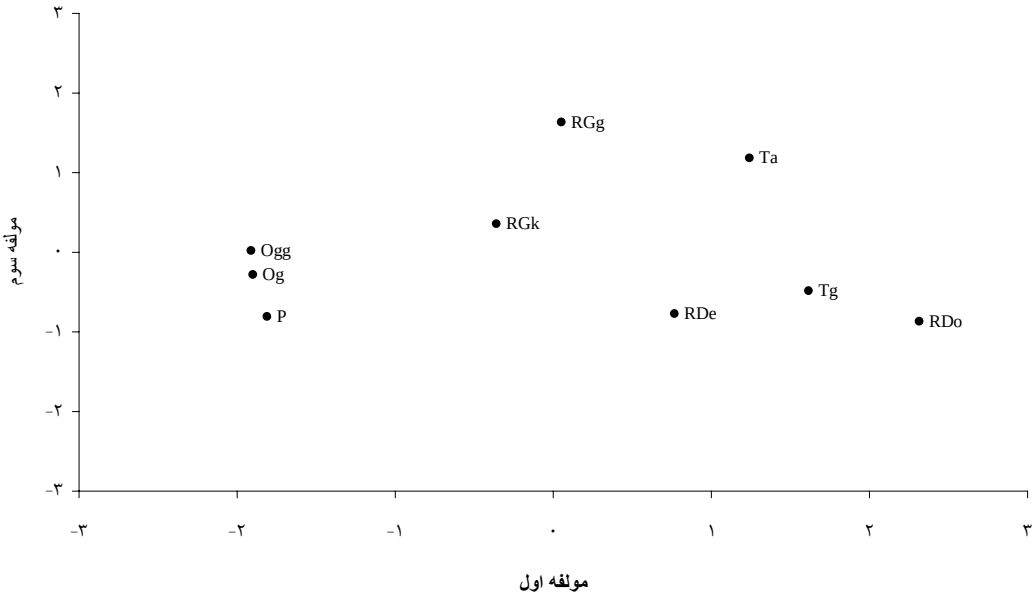
شکل ۲: درصد جوانه‌زنی بذر جمعیت‌های مختلف یونجه یکساله، ۱۱ روز بعد از کشت در سطوح مختلف تنش خشکی



شکل ۳: میانگین درصد جوانه‌زنی بذر جمعیت‌های یونجهٔ یکساله به تفکیک سطوح مختلف تنش خشکی طی ۱۱ روز بعد از کشت. (خط‌های عمودی معرف محدودهٔ تفاوت معنی‌دار آزمون دانکن در سطح ۵٪ است).

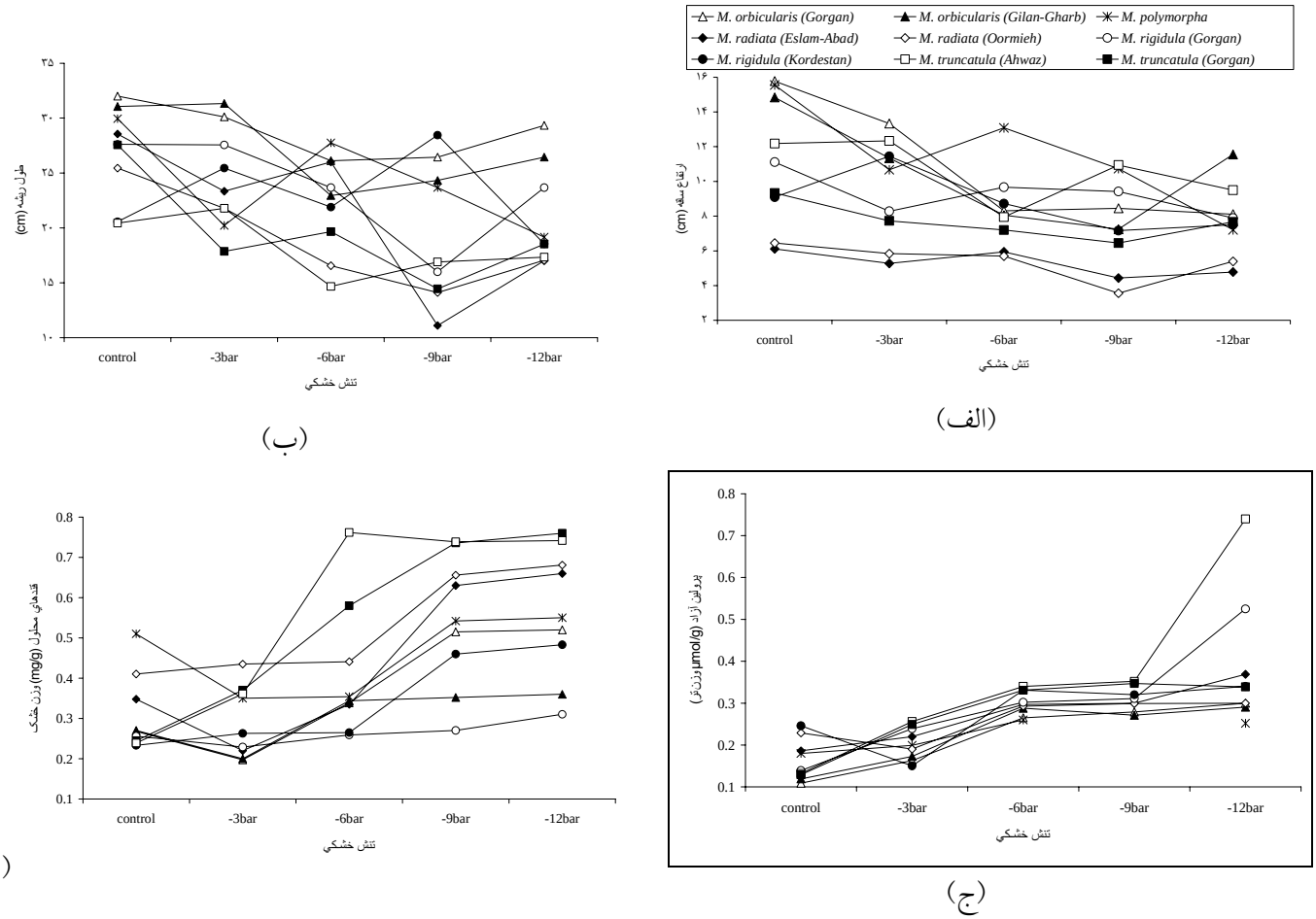


(الف)

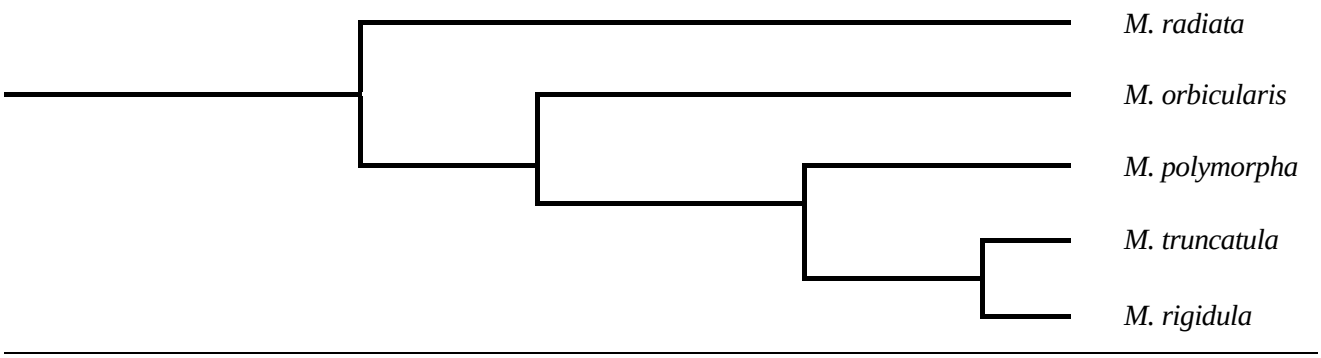


(ب)

شکل ٤: نمودار دو بعدی پراکندگی جمعیت‌ها در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی اول و دوم (الف) و اول و سوم (ب). علائم اختصاری عبارتند از: Ogg و Og برای *M. orbicularis* به ترتیب از گیلانغرب و گرگان، P برای *M. polymorpha*، RGk و RGg برای *M. rigidula* به ترتیب از کردستان و گرگان، RDe و RDo برای *M. radiata* به ترتیب از اسلام آباد و ارومیه، Ta و Tg برای *M. truncatula* به ترتیب از اهواز و گرگان



شکل ٥: تغییرات صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش تنش خشکی بر حسب میزان تنش به تفکیک جمعیت‌های یونجهٔ یکساله مورد مطالعه. الف) ارتفاع ساقه ب) طول ریشه ج) پرولین آزاد د) قندهای محلول



شکل ٦: نمودار خویشاوندی فیلوژنیک گونه‌های یونجهٔ یکساله مورد مطالعه (برگرفته از Bena، ۲۰۰۱)

منابع مورد استفاده

–اکبرزاده، م.، و سالاری، ا. ۱۳۶۸. بررسی میزان تولید علوفه یونجه‌های یکساله در شرایط دیم ارومیه. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، شمارهٔ انتشار۶۳–۱۳۶۹، تهران.

–باقری، م. ۱۳۸۰. اثر تراکم کاشت بر عملکرد بذر ۵ رقم یونجه یکساله پایان نامهٔ کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

–پهلوان‌پورفردجهرمی، ع. ۱۳۷۶. اثرات فیزیولوژیکی شرایط کم آبی بر یونجه‌های یکساله. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد دانشگاه شیراز، شیراز.

–حیدری شریف آباد، ح. ۱۳۶۷. تأثیر یونجه‌های یکساله در افزایش عملکرد گندم در منطقه طالقان. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران، کرج، ایران.

–حیدری شریف آباد، ح. و ایران‌منش، ع. ۱۳۷۵. تأثیر سوش ریزوبیوم بر روی رشد و تثبیت نیتروزن ارقام یونجه دیم. پژوهش و سازندگی شماره ۳۰: ۸۵–۷۵

–خلیلی، ق. ۱۳۷۰. اثر مقادیر مختلف میزان بذر و کود ازته بر عملکرد و برخی خصوصیات کمی و کیفی یونجهٔ یکساله کولتیوار Snai. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

–دشتی، م. ۱۳۷۵. تاثیر سوش های مختلف ریزوبیوم ملیلوتی (*Rhyzobium meliloti*) بر تثبیت ازت و خصوصیات رشد در سه گونه یونجه یکساله. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

–سندگل، ع. و ملک‌پور، ب. ۱۳۷۳. مروری بر تحقیقات انجام شده و در حال اجرا در رابطه با یونجه‌های یکساله در ایران و تدوین برنامه کار برای آینده. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، شماره انتشار ۱۰۳–۱۳۷۳، تهران.

– میرزایی ندوشن، ح. ۱۳۷۹. تولید مثل و تلاقیهای بین گونه‌ای در یونجه های یکساله. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۳: ۳۳ – ۶۲.

– شریعت، آ.، میرزایی ندوشن، ح.، قمری زارع، ع. و سنگتراش، م.ح. ۱۳۸۰a. بررسی قرابت درون و بین گونه‌ای یونجه یکساله بر اساس صفات مورفولوژیک . تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۷: ۸۱ – ۹۶.

– شریعت، آ.، میرزایی ندوشن، ح.، قمری زارع، ع. و سنگتراش، م.ح. ۱۳۸۰b. مطالعه الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای در گونه‌هایی از یونجه یکساله. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۸: ۶۷ – ۸۰.

–عبادی‌خزینه‌قدیم، ع. ۱۳۷۸. بررسی جنبه‌های فیزیولوژیک افزایش عملکرد در یونجه‌های دیم. پایان‌نامهٔ دکترای دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

–Aspinal, D. and Paleg, L.G., 1980. Proline accumulation: Physiological aspects. In: Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants (Eds D. Aspinal & L.G. Paleg), Academic Press, USA.

–Badaruddin, M. and Meyer, D. 1990. Green-manure legume effects on soil nitrogen, grain yield, and nitrogen nutrition of wheat. Crop Science, 30: 819-824 .

–Bena, G. 2001. Molecular phylogeny supports the morphologically based taxonomic transfer of the *Medicagoid trigonella* species to the genus *Medicago* L. Plant Systematics and Evolution, 229: 217-236

–Bohnert, H., Nelson, D. and Jensen, R. 1995. Adaptations to Environmental Stresses. The Plant Cell, 7:1099-1111

–Brahim, K. and Smith, S. 1993. Annual medic establishment and the potential for stand persistence in southern Arizona. Journal of Range Management, 46:21-25

–Clifford, S., Arndt, S., Corlett, J., Joshi, S., Sankhla, N., Popp, M. and Jones, H. 1998. The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Ziziphus mauritiana* (Lamk). Journal of Experimental Botany, 49:967-977

–Culter, J.M., and Rains, D.W., 1978. Effects of water stress and hardening on the internal water relations and osmotic constituents of cotton leaves. Physiologia Plantarum 42:261-268

–Fisher, D. 1985. *In situ* measurement of plant water potentials by equilibration with microdroplets of polyethylene glycol 8000. Plant Physiology, 79:270-273

–Hoagland, D. and Arnon, D. 1950. The water-culture for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circulation, 347.

northern Utah pastures. Journal of Range Management, 39:52-58

–Sheidai, M., Arman, M. and Zehzad, B. 2002. Chromosome pairing and B-chromosomes in some *Aegilops*(Poaceae) species and populations from Iran. Caryologia 55:271-361

–Specht, J., Chase, K., Macrander, M., Graef, G., Chung, J., Markwell, J., Germann, M., Orf, J. and Lark, K. 2001. Soybean response to water: A QTL analysis of drought tolerance. Crop Science, 41:493-502

–Thomas, H., 1997. Drought resistance in plants. In: Mechanisms of environmental stress resistance in plants (Ed A Basra) CRC Publishers

–Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science, 168:223-231

–Vajrabhaya, M., Kumpun, W. and Chadchawan, S. 2001. The solute accumulation: the mechanism for drought tolerance in RD23 rice (*Oryza sativa* L.) lines. ScienceAsia, 27:93-97

–Zhu, J., Kang, H., Tan, H. and Xu, M. 2006. Effects of drought stresses induced by polyethylene glycol on germination of *Pinus sylvestris* var. mongolica seeds from natural and plantation forests on sandy land. Journal of Forest Research, 11: 319-328

–Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84:55-60

–Lyons, E., Pote, J., Dacosta, M. and Huang, B. 2007. Whole-plant carbon relations and root respiration associated with root tolerance to high soil temperature for Agrostis grasses. Environmental and Experimental Botany, 59:307-313

–Malcolm, P., Holford, P., Mcglasson, W. and Conroy, J. 2004. Root zone temperature influences the growth, dry mass partitioning and leaf morphology of actively growing and bud-break plants of the peach rootstock, green leaf nemaguard. VIII International Symposium on Canopy, Rootstocks and Environmental Physiology in Orchard Systems 732: 533-541

–Noland, T., Mohammed, G. and Scott, M. 1997. The dependence of root growth potential on light level, photosynthetic rate, and root starch content in jack pine seedlings. New Forests, 13:105-119

–Ottow, E., Brinker, M., Teichmann, T., Fritz, E., Kaiser, W., Brosche, M., Kangasjarvi, J., Jiang, X. and Polle, A. 2005. *Populus euphratica* displays apoplastic sodium accumulation, osmotic adjustment by decreases in calcium and soluble carbohydrates, and develops leaf succulence under salt stress. Plant Physiology 139:1762-1772

–Rodriguez, G., Cantusilva, I., Meza, G. and Lozano, R. 2004. Plant water relations of thornscrub shrub species, north-eastern Mexico. Journal of Arid Environments, 58:483-503

–Rumbaugh, M. and Johnson, D. 1986. Annual medics and related species as reseeding legumes for

Assessment of resistance to PEG-induced drought in annual medic using aquaculture conditions

A. Ghamari-Zare[1*], S. Rezvani[2] and M. Forootan[3]

1* - Corresponding author, Assis. Prof., tute of Forests and Rangelands, P.O.Box 13185-116, Tehran, I.R.Iran.
E-Mail : ghamari-zare@fifr-oc.ir
2 – MSc., Jiroft Branch, Islamic Azad University, Kerman, I.R.Iran
3 – PhD., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran

Received: 17.04.2008 Accepted: 14.09.2008

Abstract

Annual medics (*Medicago spp.*) are suitable plant species for cultivation in regions with soil erosion problem, and due to limited water resources in such areas, drought resistance in these species is considered a valuable trait. Nine populations, of five annual medic species were assessed for drought resistance under aquaculture condition. Different levels of polyethylene glycol (PEG) were employed to induce drought stress Physiological/biochemical traits including germination rate, leaf vigor, root length, shoot height, free proline content, and total soluble sugars were recorded. Results confirmed the significant effects of PEG on drought stress induction, and biochemical traits showed higher correlation with drought level compared to phenotypical ones. It is postulated that while sugar accumulation is started at low stages of drought, proline accumulation will initiate at critical drought levels. While *M. truncatula* expressed higher levels of biochemical traits, *M. orbicularis* showed superior in terms of phenotypic characteristics. The results suggested that the drought resistance gained by proline accumulation capability might have emerged in annual medic during the long-term biodiversity procedure.

Keywords: Annual medics, Aquaculture, Drought stress, Polyethylene glycol