



Research Paper

A Study on the Genetic Diversity of Agro-Morphological Traits in Wild Populations of alfalfa (*Medicago* spp.) in Drought Stress Conditions**Zohre Rafie¹, Fatemeh Amini² , Hossein Ramshini³, Ali Izadi Darbandi⁴, Seyed Ahmad Sadat Noori⁵ and Farangis Ghanavati⁶**

- 1- MSc, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, Faculty of Agricultural Technology, Tehran University (Abouraihan), Pakdasht, Iran
2 -Associate Professor, Research Institute of Biotechnology and Bioengineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, (Corresponding author: aminif@ut.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, Faculty of Agricultural Technology, Tehran University (Abouraihan), Pakdasht, Iran
4- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, Faculty of Agricultural Technology, Tehran University (Abouraihan), Pakdasht, Iran
5- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, Faculty of Agricultural Technology, Tehran University (Abouraihan), Pakdasht, Iran
6- Associate Professor, Seed and Plant Improvement Institute

Received: 25 December, 2023

Accepted: 29 April, 2024

Extended Abstract

Background: Alfalfa is the most important leguminous forage that plays a key role in providing fodder needed for the production of human protein and dairy products. This plant has high nutritional value with high adaptability to different conditions. Alfalfa is recommended for sustainable agriculture because it has a deep root system and is a perennial plant, hence it can prevent soil erosion. Alfalfa is an excellent source for the biological fixation of air nitrogen. Researchers believe that 65% of the total nitrogen used in agriculture is through biological nitrogen fixation. It is very palatable and effective in the growth of livestock in terms of fodder quality and the optimal amount of energy from plants. In addition to protein, this plant is rich in vitamins, especially A, C, E, and K, as well as mineral compounds such as calcium. The distribution of the types of annual alfalfa at the global level, especially in arid and semi-arid regions, shows their resistance to water shortage and drought conditions. Alfalfa can be used as a successful plant to prevent desertification and the expansion of deserts. Among annual alfalfas, some species can adapt to 80-100 mm of winter rain for improvement and development in dry areas and desert pastures. However, most of Iran is suffering from water shortage, and one of the limitations of breeding for drought stress is the lack of resistance sources among crop genotypes. For this purpose, the evaluation of wild genotypes can be an important step in this direction.

Methods: This research was conducted on perennial alfalfa genotypes (one variety) and one-year alfalfa (nine samples) in a factorial experiment (alfalfa genotypes and stress as the first and second factors, respectively) with three replications in a block design. Samples of alfalfa were evaluated in normal and severe stress conditions in the greenhouse of the Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran (Abureihan Campus) during 2012-2013. The factorial experiment was conducted based on a randomized complete block design with three replications. The irrigation factor was water deficit stress including irrigation when soil moisture reached 30% of field capacity (severe stress), and the second irrigation level was normal conditions. Cultivation was carried out in May at a temperature of 22 °C, a photoperiod with 16 hours of light, and adequate humidity. Sixty medium plastic pots with an opening diameter of 15 cm, a height of 15 cm, and a capacity of 2 kg were filled with soil. Before planting, the seeds were broken by pulling soft sandpaper on their surfaces and performing stratification, followed by the seed germination test. Light irrigation was done one day before planting. Then, seven seeds were planted in each pot at a depth of 1 cm, and the soil surface was covered with cocopeat to protect soil moisture. The soil of the pots was watered with a sprinkler twice a day until the stress application. After reaching a height of 15 cm, 50% Hoagland's solution was used to feed the plants. After 55 days from the time of planting, the morphological traits, such as stem number, plant height, leaf number, internode number, internode length, leaf area, dry leaf weight, and dry stem weight, were evaluated at the vegetative growth stage. The weight method was used to adjust the soil moisture



content. Excel software was used to draw graphs, and data were analyzed using SAS software. Means were compared using Duncan's method.

Results: Drought stress negatively affected the evaluated traits. The differences between all evaluated genotypes were significant at the 1% probability level, revealing the existence of genetic diversity between genotypes that can be used for the selection of drought-tolerant genotypes in a subsequent study. The interaction effect of the genotype in stress conditions showed that the changes of different genotypes in different moisture conditions were not the same for most of the traits and genotypes. The heritability calculation results showed high general heritability for all the studied traits. The highest heritability belonged to the leaf dry weight trait (92.96 and 91.77 under full irrigation and severe stress conditions, respectively), and the lowest heritability was observed for the internode number trait (71.83 and 66.93 under full irrigation and severe stress conditions, respectively). The highest coefficient of variation belonged to the number of branches per plant trait (22.49) and the lowest value was observed for the leaf dry weight trait (8.86). In this study, Kermanshah130 and Azarbayjan175 were the most tolerant genotypes with the lowest decrease for leaf dry weight, stem dry weight, stem number, plant height, leaf number, and internode length.

Conclusion: Since the wild genotypes Kermanshah 130 and Azarbayjan 175 were the most tolerant genotypes in this study, they can be used as new sources of resistance in future breeding programs.

Keywords: Heritability, Stress, Wet weight, Wild alfalfa

How to Cite This Article: Rafie, Z., Amini, F., Ramshini, H., Izadi Darbandi, A., Sadat Noori, S. A., & Ghanavati, F. (2024). A Study on the Genetic Diversity of Agro-Morphological Traits in Wild Populations of alfalfa (*Medicago* spp.) in Drought Stress Conditions. *J Crop Breed*, 16(3), 1-12. DOI: 10.61186/jcb.16.3.1



مقاله پژوهشی

مطالعه تنوع ژنتیکی صفات مورفولوژیک و زراعی توده‌های وحشی یونجه (*Medicago spp.*) در شرایط تنش خشکیزهره رفیعی^۱، فاطمه امینی^{۱D}، حسین رامشینی^۲، علی ایزدی دربندی^۳، سید احمد سادات نوری^۴ و فرنگیس قنوتی^۱

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران (ابوریحان)، پاکدشت، ایران
 ۲- دانشیار، پژوهشکده زیست فناوری و مهندسی زیستی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، (نویسنده مسوول: aminif@ut.ac.ir)
 ۳- دانشیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران (ابوریحان)، پاکدشت، ایران
 ۴- دانشیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران (ابوریحان)، پاکدشت، ایران
 ۵- استاد، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی دانشگاه تهران (ابوریحان)، پاکدشت، ایران
 ۶- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۴ صفحه: ۱ تا ۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: یونجه مهم‌ترین لگوم علوفه‌ای می‌باشد که برای تأمین علوفه مورد نیاز جهت تولید پروتئین و مواد لبنی بشر نقش بسیار مهمی دارد. این گیاه ارزش غذایی بالایی داشته و سازگاری آن به شرایط مختلف بالا است. یونجه برای کشاورزی پایدار توصیه می‌شود زیرا دارای سامانه ریشه‌ای عمیق بوده و به دلیل چند ساله بودن می‌تواند از فرسایش خاک جلوگیری کند. یونجه منبع بسیار خوبی برای تثبیت بیولوژیکی نیتروژن هوا است. محققین معتقدند که ۶۵٪ از کل نیتروژن مصرفی در کشاورزی از طریق تثبیت بیولوژیکی نیتروژن صورت گرفته است. از نظر کیفیت علوفه و میزان انرژی مطلوب از گیاهان بسیار خوش خوراک بوده و در رشد دام‌ها مؤثر می‌باشد. این گیاه علاوه بر پروتئین، سرشار از انواع ویتامین‌ها به خصوص A, C, E, K و ترکیبات معدنی از قبیل کلسیم هستند. پراکنش انواع یونجه‌های یک‌ساله در سطح جهانی به خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک، نشان دهنده مقاومت آن‌ها در برابر شرایط کم آبی و خشکی است. می‌توان از یونجه به عنوان گیاهانی موفق جهت جلوگیری از بیابان‌زایی و گسترش کویرها استفاده نمود. در میان یونجه‌های یک‌ساله گونه‌هایی وجود دارند که قادرند جهت اصلاح و توسعه در مناطق خشک و مراتع بیابانی با باران زمستانی ۸۰ تا ۱۰۰ میلی‌متر سازگار شوند. یکی از محدودیت‌های اصلاح برای تنش خشکی موجود نبودن منابع مقاومت در بین ژنوتیپ‌های زراعی است. برای این منظور ارزیابی ژنوتیپ‌های وحشی می‌تواند گام مهمی در این مسیر باشد.

مواد و روش: این پژوهش بر روی ژنوتیپ‌های یونجه چندساله (یک رقم) و یک ساله (نه توده) (جدول ۱) به صورت فاکتوریل (فاکتور اول ژنوتیپ‌های یونجه و فاکتور دوم تنش) با سه تکرار و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در گلخانه دانشکده فناوری کشاورزی دانشگاه تهران (پردیس ابوریحان) انجام شد. شرایط رشد به صورت آبیاری کامل و تنش خشکی شدید (۳۰٪ ظرفیت نگهداری آب) بود که طی سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ اجرا گردید. کشت در اردیبهشت ماه در گلخانه پردیس ابوریحان دانشگاه تهران در شرایط دمایی ۲۲ درجه سانتی‌گراد، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و با رطوبت مناسب کشت شدند. تعداد ۶۰ گلدان متوسط پلاستیکی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر و ظرفیت ۲ کیلوگرم پر گردید. پیش از کاشت با کشیدن سمباده نرم روی سطوح بذور و انجام عمل استرافیکاسیون خواب بذور شکسته شد و نیز آزمون قدرت جوانه‌زنی بذور انجام گردید. روز قبل از کشت آبیاری سبک انجام شد، سپس داخل هر گلدان هفت بذر در عمق یک سانتی‌متری خاک کشت شد و روی سطح خاک با کوکوبیت به منظور حفاظت رطوبت خاک پوشانده شد. خاک گلدان‌ها تا قبل از اعمال تنش روزی دو مرتبه با آبیاری شدند و بعد از رسیدن به ارتفاع ۱۵ سانتی‌متری از محلول هوکلند ۵۰٪ برای تغذیه گیاهان استفاده شد و پس از گذشت ۵۵ روز از زمان کاشت گیاهان و در مرحله رشد رویشی صفات مورفولوژیک شامل تعداد شاخه، ارتفاع ساقه، تعداد برگ، تعداد میان‌گره، طول میان‌گره، مساحت برگ، وزن تر برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه اندازه‌گیری گردید. برای تنظیم مقدار رطوبت خاک از روش وزنی استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد و نیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS تجزیه گردید و مقایسات میانگین با استفاده از روش دانکن انجام شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی آثار منفی بر صفات مختلف بررسی شده داشته است. واکنش ارقام به تنش نیز با توجه به تفاوت آن‌ها از لحاظ تحمل به خشکی تحت تأثیر قرار گرفت. اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح ۱ درصد برای صفات ارزیابی شده بیانگر وجود تنوع ژنتیکی میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد و می‌تواند در مطالعات بعدی تحمل به خشکی جهت گزینش ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گیرد. همچنین اثر متقابل ژنوتیپ در شرایط تنش برای اکثر صفات کمی نشان می‌دهد که میزان تغییرات ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط متفاوت رطوبتی برای اکثر صفات یکسان نبوده و ژنوتیپ‌ها واکنش‌های متفاوتی در دو شرایط تنش خشکی و نرمال داشتند. نتایج محاسبه وراثت‌پذیری برای صفات مورد مطالعه نشان داد که تمامی صفات، وراثت‌پذیری عمومی بالایی را از خود نشان دادند. بیشترین وراثت‌پذیری برای صفت وزن خشک برگ (۹۲/۹۶) در شرایط آبیاری کامل و ۹۱/۷۷ در شرایط تنش شدید) و کمترین وراثت‌پذیری برای صفت تعداد میان‌گره (۷۱/۸۳) در شرایط آبیاری کامل و ۶۶/۹۳ در شرایط تنش شدید) مشاهده شد. بیشترین ضریب تغییرات مربوط به صفت تعداد شاخه در بوته (۲۲/۴۹) و کمترین آن برای صفت وزن خشک برگ (۸/۸۶) مشاهده شد. در این پژوهش در مجموع می‌توان ژنوتیپ‌های کرمانشاه ۱۳۰ و آذربایجان ۱۷۵ را به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها معرفی نمود. این ژنوتیپ‌ها کاهش کمتری در اکثر صفات مورفولوژی مانند وزن خشک ساقه، وزن خشک برگ، وزن تر ساقه، تعداد شاخه، طول بلندترین ساقه، تعداد برگ و طول میان‌گره در شرایط تنش داشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه ژنوتیپ‌های وحشی ۱۳۰ (از کرمانشاه) و ۱۷۵ (از آذربایجان غربی) جزو مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌های این مطالعه بودند می‌توان به عنوان منابع جدید مقاومت در برنامه‌های اصلاحی آینده استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تنش، وراثت‌پذیری، وزن تر، یونجه وحشی

مقدمه

داشته و سازگاری آن به شرایط مختلف بالا است. یونجه برای کشاورزی پایدار توصیه می‌شود زیرا دارای سامانه ریشه‌ای عمیق بوده و به دلیل چند ساله بودن می‌تواند از فرسایش خاک جلوگیری کند (Lopes et al., 2015). یونجه اغلب به نام ملکه گیاهان علوفه‌ای نامیده می‌شود. این گیاه از مهم‌ترین گیاهان

یونجه مهم‌ترین لگوم علوفه‌ای می‌باشد که برای تأمین علوفه مورد نیاز جهت تولید پروتئین و مواد لبنی بشر نقش بسیار مهمی دارد (Lei et al., 2017). این گیاه ارزش غذایی بالایی

سطح از تنش خشکی بر میزان بیومس و صفات مورفولوژیک پنج ژنوتیپ زراعی یونجه گزارش گردید در شرایط تنش شدید ژنوتیپ‌های مقاوم سطح برگ خود را برای مقابله با خشکی کاهش دادند و تنش متوسط بر میزان بیومس تغییر چندانی ایجاد نکرد (Zamaniyan et al., 2004).

در کشور ایران فعالیت‌های پژوهشی کمی در خصوص اصلاح و به زراعی یونجه صورت گرفته است. برای مثال دو جمعیت اصلاح شده به نام‌های رقم امید مخصوص کشت در مناطق گرمسیری (Rahnama et al., 2018) و رقم آذر ویژه کشت در مناطق سرد و سرد معتدل (Monirifar et al., 2020) معرفی شده است. با توجه به اهمیت گیاه یونجه برای کشور و لزوم تولید ارقام پر محصول در مناطق خشک، این پژوهش با هدف بررسی صفات مورفولوژیک توده‌های وحشی یونجه در پاسخ به تنش خشکی اجرا شد تا بتوان بهترین ژنوتیپ‌ها را شناسایی کرده و از آنها در آینده به‌عنوان منابع ژنتیکی مقاومت استفاده کرد. با توجه به اینکه یونجه نخستین و مهم‌ترین گیاه علوفه‌ای است که اهلی شده و علوفه اصلی دام در ایران را تشکیل می‌دهد و با توجه به خشک بودن اقلیم ایران، توجه به گیاهان مقاوم به تنش خشکی جهت افزایش تولید علوفه بسیار ضروری است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر روی ژنوتیپ‌های یونجه چند ساله (یک رقم) و یک‌ساله (نه توده) (جدول ۱) به‌صورت فاکتوریل (فاکتور اول ژنوتیپ‌های یونجه و فاکتور دوم تنش) با سه تکرار و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در گلخانه دانشکده فناوری کشاورزی دانشگاه تهران (پردیس ابوریحان) انجام شد. شرایط رشد به‌صورت آبیاری کامل و تنش خشکی شدید (۳۰٪ ظرفیت نگهداری آب) بود که طی سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ اجرا گردید. کشت در اردیبهشت ماه در گلخانه پردیس ابوریحان دانشگاه تهران در شرایط دمایی ۲۲ درجه سانتی‌گراد، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و با رطوبت مناسب کشت شدند. تعداد ۶۰ گلدان متوسط پلاستیکی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر و ظرفیت ۲ کیلوگرم با ترکیبی از خاک، خاک‌برگ الک شده، کود دامی پوسیده و ماسه شسته به نسبت ۲: ۱: ۱: ۱ پر گردید. پیش از کاشت با کشیدن سمباده نرم روی سطوح بذور و انجام عمل استرافیکاسیون خواب بذور شکسته شد و نیز آزمون قدرت جوانه‌زنی بذور انجام گردید. روز قبل از کشت آبیاری سبک انجام شد، سپس داخل هر گلدان هفت بذر در عمق یک سانتی‌متری خاک کشت شد و روی سطح خاک با کوکویت به‌منظور حفاظت رطوبت خاک پوشانده شد و زیر گلدان‌ها بشقاب نگهداری آب قرار گرفت. خاک گلدان‌ها تا قبل از اعمال تنش روزی دو مرتبه با آبیاری شدند و بعد از رسیدن به ارتفاع ۱۵ سانتی‌متری از محلول هورگلدن ۵۰٪ برای تغذیه گیاهان استفاده شد و پس از گذشت ۵۵ روز از زمان کاشت گیاهان و در مرحله رشد رویشی صفات مورفولوژیک شامل تعداد شاخه، ارتفاع ساقه (از سطح گلدان تا بلندترین ساقه با خطکش اندازه‌گیری شد)، تعداد برگ، تعداد میان‌گره، طول میان‌گره (فاصله بین دو گره با خطکش اندازه‌گیری شد)، مساحت برگ، وزن تر برگ (وزن برگ‌ها بلافاصله بعد از

علوفه‌ای جهان در کشورهای آمریکا، کانادا، استرالیا، ایران و سایر کشورها به‌شمار می‌روند (Heidari sharif abad et al., 2000). گفته می‌شود که خاستگاه یونجه منطقه شمال غرب ایران، منطقه آناتولی شمال ترکیه و منطقه قفقاز می‌باشد (Ghanizadeh et al., 2014). یونجه منبع بسیار خوبی برای تثبیت بیولوژیکی نیتروژن هوا است. محققین معتقدند که ۶۵٪ از کل نیتروژن مصرفی در کشاورزی از طریق تثبیت بیولوژیک نیتروژن صورت گرفته است (Heidari sharif abad et al., 2000). از نظر کیفیت علوفه و میزان انرژی مطلوب از گیاهان بسیار خوش‌خوراک بوده و در رشد دام‌ها مؤثر می‌باشد (Lei et al., 2017). این گیاه علاوه بر پروتئین، سرشار از انواع ویتامین‌ها به‌خصوص A, C, E, K و ترکیبات معدنی از قبیل کلسیم هستند (Pilorgé and Muel, 2016).

به دلیل وجود تنوع ژنتیکی در میان گونه‌های یونجه، این گیاه به‌عنوان ژرم‌پلاسم غنی محسوب شده و منبع ژنتیکی با ارزشی جهت اصلاح یونجه‌های چندساله می‌باشند. علی‌رغم اهمیت زراعی این گیاه، پیشرفت‌های حاصل از برنامه‌های اصلاحی در این گیاه به‌خاطر توارث تترازومی، پسروی خویش‌آمیزی شدید و پیچیدگی ساختار ژنتیکی آن نسبت به گیاهان دیگر زیاد نبوده است (Khodarahmpour et al., 2017).

پراکنش انواع یونجه‌های یک‌ساله در سطح جهانی به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک، نشان دهنده مقاومت آن‌ها در برابر شرایط کم آبی و خشکی است. می‌توان از یونجه به‌عنوان گیاهی موفق جهت جلوگیری از بیابان‌زایی و گسترش کویرها استفاده نمود. در میان یونجه‌های یک‌ساله گونه‌هایی وجود دارند که قادرند جهت اصلاح و توسعه در مناطق خشک و مراتع بیابانی با باران زمستانی ۸۰ تا ۱۰۰ میلی‌متر سازگار شوند (Buxton., 2004). یکی از محدودیت‌های اصلاح برای تنش خشکی موجود نبودن منابع مقاومت در بین ژنوتیپ‌های زراعی است. برای این منظور ارزیابی ژنوتیپ‌های وحشی واند گام مهمی در این مسیر باشد (Peter et al., 1988).

تحقیقات در مورد یونجه نشان داده که با کاهش رطوبت خاک تعداد ساقه در گیاه، ارتفاع گیاه، وزن ریشه و بخش هوایی گیاه کاهش می‌یابد (Pataki et al., 2003; Afsharmanesh, 2009; Sheaffer et al., 2000). همچنین مشخص شده است که در شرایط تنش رطوبتی شدید، همواره درصد وزن برگ‌ها افزایش می‌یابد و این خصوصیت می‌تواند با کمتر شدن فواصل بین گره‌ای و قطر ساقه همراه باشد. به‌عبارت دیگر در گیاهان تحت تنش، وزن بافت‌های ساقه نسبت به وزن برگ کاهش می‌یابد. این افزایش درصد برگ، ناشی از توقف رشد و نه به‌دلیل تأثیر کمتر تنش بر روی برگ‌ها نسبت به ساقه است (Sheaffer et al., 2000). در بررسی اثر تنش خشکی بر رشد یونجه مشخص شد که با افزایش تنش خشکی، طول ریشه و ساقه کاهش می‌یابد، همچنین افزایش تنش خشکی، اندازه برگ، طول میان‌گره و وزن ماده خشک یونجه را در طی ۱۴ روز پس از ایجاد تنش کاهش می‌دهد (Afsharmanesh, 2009). در مطالعه‌ای با بررسی اثر سه

کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها و در ژنوتیپ فارس ۲ بیشتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (شکل ۷). در شرایط تنش شدید نیز کاهش در طول میان‌گره در ژنوتیپ کرمانشاه ۱۳۰ و فارس ۲ کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها و در ژنوتیپ کرمانشاه ۱۱۹ بیشتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (شکل ۸).

نتایج محاسبه وراثت‌پذیری برای صفات مورد مطالعه نشان داد که تمامی صفات، وراثت‌پذیری عمومی بالایی را از خود نشان دادند. بیشترین وراثت‌پذیری برای صفت وزن خشک برگ (۹۲/۹۶) در شرایط آبیاری کامل و ۹۱/۷۷ در شرایط تنش شدید) و کمترین وراثت‌پذیری برای صفت تعداد میان‌گره (۷۱/۸۳) در شرایط آبیاری کامل و ۶۶/۹۳ در شرایط تنش شدید) مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین ضریب تغییرات مربوط به صفت تعداد شاخه در بوته (۲۲/۴۹) و کمترین آن برای صفت وزن خشک برگ (۸/۸۶) مشاهده شد.

تنش خشکی صفت پیچیده‌ای است و گیاهان از طریق تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و متابولیکی در اندام‌های خود به تنش خشکی پاسخ می‌دهند (Prince et al., 2020).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی آثار منفی بر صفات مختلف بررسی شده داشته است. واکنش ارقام به تنش نیز با توجه به تفاوت آن‌ها از لحاظ تحمل به خشکی تحت تأثیر قرار گرفت. اختلاف بسیار معنی‌دار در سطح ۱ درصد برای صفات ارزیابی شده بیانگر وجود تنوع ژنتیکی میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد و می‌تواند در مطالعات بعدی تحمل به خشکی جهت گزینش ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گیرد. همچنین اثر متقابل ژنوتیپ در شرایط تنش برای اکثر صفات کمی نشان می‌دهد که میزان تغییرات ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط متفاوت رطوبتی برای اکثر صفات یکسان نبوده و ژنوتیپ‌ها واکنش‌های متفاوتی در دو شرایط تنش خشکی و نرمال داشتند. در شرایط نرمال و تنش خشکی اکثر صفات دارای وراثت‌پذیری بالایی بودند با این حال کمترین میزان وراثت‌پذیری در شرایط نرمال و تنش شدید در مورد صفت تعداد میان‌گره مشاهده شد. بیشترین وراثت‌پذیری برای صفت وزن خشک برگ مشاهده شد. در مطالعه مونیریفیر و همکاران (Monirifar et al., 2023) میزان وراثت‌پذیری عملکرد تر، عملکرد خشک، ارتفاع، نسبت وزن تر برگ به وزن تر ساقه و وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه به ترتیب ۵۱٪، ۵۰٪، ۴۶٪، ۱۱٪ و ۱۹٪ برآورد گردید.

در مطالعات افشارمنش (Afsharmanesh, 2009) و آنور و همکاران (Anower et al., 2015) گزارش گردید با افزایش سن گیاه تعداد شاخه در گیاه افزایش می‌یابد ولی این صفت تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و کاهش پیدا کرده است. کاهش تعداد شاخه در نتیجه تنش خشکی در مطالعه‌های مارتینز (Martens, 2007) و سعید و نادى (Saeed and Nadi, 1997) هم گزارش شده است. کاهش تعداد شاخه استراتژی گیاه برای کاهش سطح تعرق و از دست دادن آب می‌باشد. کاهش رشد ساقه در شرایط تنش خشکی در مطالعه بوکستون (Boxtton, 2004) و افشارمنش (Afsharmanesh, 2009) هم گزارش شده است. کاهش رشد ساقه باعث کاهش قطر ساقه و طول میان‌گره می‌شود که این نتیجه در مطالعه

برداشت و جداسدن از ساقه با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد)، وزن تر ساقه (وزن شاخه‌ها بلافاصله بعد از برداشت و جداسدن برگ‌ها با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد)، وزن خشک برگ (وزن برگ‌ها بعد از ۴۸ ساعت در آون ۷۲ درجه سانتی‌گراد با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد)، وزن خشک ساقه (وزن برگ‌ها بعد از ۴۸ ساعت در آون ۷۲ درجه سانتی‌گراد با ترازو با دقت ۰/۰۰۱) اندازه‌گیری گردید. برای تنظیم مقدار رطوبت خاک از روش وزنی استفاده شد به این صورت که در ابتدا وزن خاک خشک به همراه گلدان اندازه‌گیری شد. سپس آبیاری در غروب انجام شده و فردای آن روز وزن گلدان دوباره اندازه‌گیری شد. به این ترتیب میزان رطوبت ظرفیت زراعی به دست آمد. سپس وزن کردن گلدان‌ها به صورت روزانه انجام شد تا زمانی که میزان رطوبت خاک به حد ۳۰٪ ظرفیت زراعی برسد که همان سطح تنش شدید بود و در این مرحله آبیاری مجدد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد و نیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS تجزیه گردید و مقایسات میانگین با استفاده از روش دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ از لحاظ کلیه صفات مورد مطالعه وجود دارد. همچنین بین شرایط تنش شدید و نرمال اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ برای صفات طول بلندترین ساقه، تعداد برگ، طول میان‌گره، وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه وجود داشت. به طور کلی نتایج نشان می‌دهد در تنش خشکی تعداد شاخه کاهش می‌یابد اما این کاهش در شرایط تنش شدید در ژنوتیپ‌های آذربایجان ۱۷۵ و کرمانشاه ۱۳۰ کمتر از سایر ژنوتیپ‌هاست و در ژنوتیپ قزوین ۶۵ بیشتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (شکل ۱). برای صفت طول بلندترین ساقه به جز در مورد ژنوتیپ فارس ۲ در تنش شدید خشکی، طول بلندترین ساقه کاهش می‌یابد اما این کاهش در شرایط تنش شدید در ژنوتیپ الموت ۱۵۷ کمتر از سایر و در ژنوتیپ قزوین ۶۵ بیشتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (شکل ۲).

در این مطالعه تنش خشکی باعث کاهش تعداد برگ شد اما این کاهش در شرایط تنش در ژنوتیپ کرمانشاه ۱۲۹ کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها و در ژنوتیپ آذربایجان ۱۷۵ بیشتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (شکل ۳). همچنین در شرایط تنش کاهش در مساحت برگ در ژنوتیپ کرمانشاه ۱۱۹ کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها و در ژنوتیپ نیک‌شهری بیشتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (شکل ۴). در این مطالعه اثر ژنوتیپ و ژنوتیپ × تنش برای وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه معنی‌دار بود (جدول ۲). در شرایط تنش کاهش در وزن خشک برگ در ژنوتیپ‌های کرمانشاه ۱۱۹ و کرمانشاه ۱۳۰ کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها و در ژنوتیپ‌های فارس ۲ و قزوین ۶۵ بیشتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (شکل ۵). کاهش در وزن خشک ساقه در شرایط تنش در ژنوتیپ قزوین ۶۵ و الموت ۱۵۷ کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها و در ژنوتیپ کرمانشاه ۱۱۹ بیشتر از سایر ژنوتیپ‌هاست (شکل ۶).

در مطالعه حاضر تنش خشکی باعث کاهش تعداد میان‌گره شد اما این کاهش در ژنوتیپ‌های آذربایجان ۱۷۵ و نیک‌شهری

در مطالعه پرنیس و همکاران (Prince et al., 2020) از روش مورفولوژی و مشخصات فیزیولوژیکی برگ و ریشه دو زیرگونه مختلف یونجه در طول تنش خشکی در شرایط کنترل شده و مزرعه استفاده شد و ژنوتیپ‌های مقاوم معرفی گردید. در مطالعه پتاکا و همکاران (Pataki, et al., 2003) پنج رقم یونجه در شرایط تنش خشکی و نرمال مقایسه شدند. تنش خشکی باعث کاهش وزن برگ و ساقه شد که با نتایج این مطالعه هماهنگی داشت. افزایش دما و کمبود آب باعث کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز و سپس کاهش وزن خشک بوته می‌شود (Aranjuelo, et al., 2001). به عبارتی تنش خشکی سبب می‌شود که روزنه‌ها به منظور حفظ آب بیشتر در گیاه، منافذ خود را ببندند و این امر علاوه بر تغییر در طول روزنه با تغییر در عرض روزنه‌ها نیز انجام می‌گیرد.

مارتینز (Martenz, 2007)؛ بونر (Bonner, 1997)؛ و سعید و نادى (Saeed and Nadi, 1997) هم گزارش شد. مساحت برگ در یونجه در نتیجه دو عامل تعداد شاخه در بوته و تعداد برگ در بوته تعیین می‌شود (Afsharmanesh, 2009). کاهش سطح برگ در نتیجه تنش توسط آرانجولو و همکاران (Aranjuelo, et al., 2005) و آنور و همکاران (Anower et al., 2015) هم گزارش شده است. در مطالعه کارتر و شفر (Carter & Sheaffer, 1983) کاهش ۳۹ درصدی سطح برگ را در شرایط تنش خشکی گزارش کردند. سطح برگ نقش مهمی را در فتوسنتز گیاه به عهده دارد به طوری که کاهش سطح برگ باعث کاهش جذب آب از خاک و کاهش تعرق می‌شود. بنابراین کاهش سطح برگ اولین مرحله دفاعی گیاه در مقابل تنش خشکی می‌باشد (Taiz and Zeiger, 2005).

جدول ۱- نام ژنوتیپ‌های یونجه مورد بررسی در آزمایش تحمل به تنش خشکی

Table 1. Names of alfalfa genotypes studied in the drought stress tolerance test

محل جمع‌آوری نمونه Sample collection location	نام علمی Scientific name	ژنوتیپ Genotype
Abiq - in front of Abiq barracks - 1300 meters high	<i>Medicago rigiduloides</i>	Qazvin65
Gorgan - Marzan Kalate village - height 80 meters	<i>M. arabica</i>	Golestan207
Alamut-Hassan-Khanbeh Khokheh-Chal castle path-right side of the road-altitude 2120 meters	<i>M. minima</i>	Alamut157
Kermanshah-Xian-Mazreh junction-altitude 1450 meters	<i>M. noeana</i>	Kermanshah119
Kilometer 60 of Shiraz road-Dasht Arjan-on the right side of the cemetery-altitude 1910 meters	<i>M. orbicularis</i>	Fars2
Kermanshah - the head of the Zahab bridge towards Gilangharb - one kilometer after Sarab Garm - 700 meters high	<i>M.constricta</i>	Kermanshah129
Kermanshah - the head of the Zahab bridge towards Gilangharb - one kilometer after Sarab Garm - 700 meters high	<i>M. doliata</i>	Kermanshah130
Seru-typical village-mountain range-altitude 1600 meters	<i>M. radiata</i>	Azərbayjan163
Piranshahr-Mirabad to Sardasht-altitude 1440 meters	<i>M. polymorpha</i>	Azərbayjan175
Ecotype of alfalfa	<i>M. sativa</i>	Nikshahri

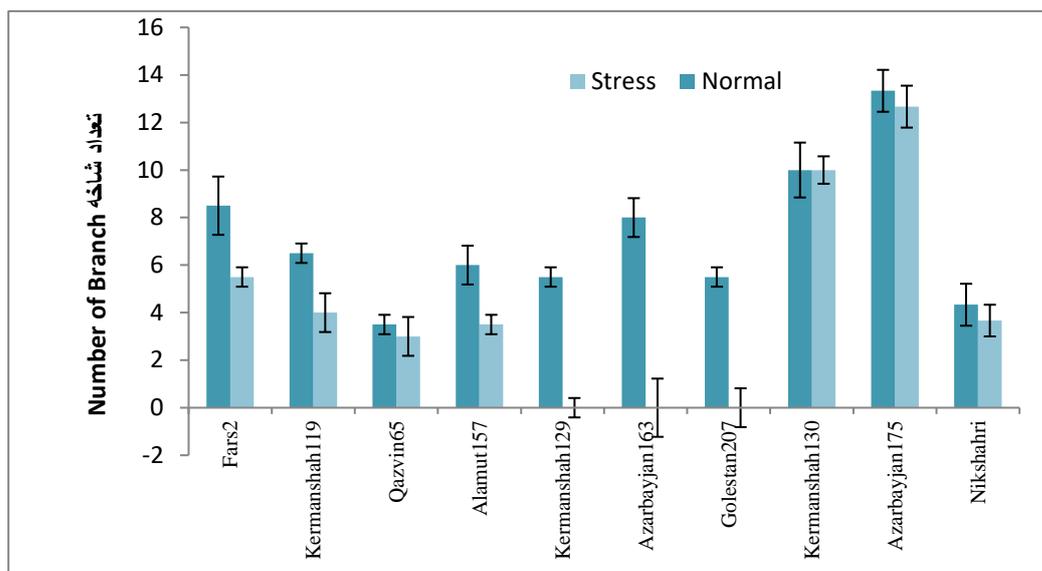
جدول ۲- تجزیه واریانس فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در ۱۰ ژنوتیپ یونجه

Table 2. Analysis of factorial variance is randomized complete block design in 10 alfalfa genotypes

میانگین مربعات Mean Square		درجه آزادی df	منابع تغییر Source of variation					
وزن خشک ساقه Dry (g) stem weight	وزن خشک برگ Dry leaf (g) weight	مساحت برگ Leaf (mm ²) area	طول میانگره length (cm) of internode	تعداد میانگره number of internode	تعداد برگ number of leaf	طول بلندترین ساقه length of highest stem (cm)	تعداد شاخه number of branche	ژنوتیپ Genotype (G)
0.76**	1.03**	0.70**	6.27**	13.53**	348.12**	279.76**	46.9**	9
0.52**	0.156**	0.17**	2.31**	23.34**	737.04**	156.06**	21.41*	1
0.06**	0.08**	4.7×10 ⁻³ ns	0.224*	1.23 ns	76.33**	20.4**	2.33 ^{ns}	9
0.011	0.009	2.8×10 ⁻³	0.19	1.62	6.64	3.32	4.35	24
12.97	5.86	5.89	14.05	13.11	12.12	8.48	22.49	ضریب تغییرات CV (%)
92.23	92.96	92.02	83.63	71.83	92.54	87.33	79.72	وراثت‌پذیری Heritability
80.57	91.72	89.80	87.61	66.93	85.49	89.15	70.04	تنش شدید Severe Stress

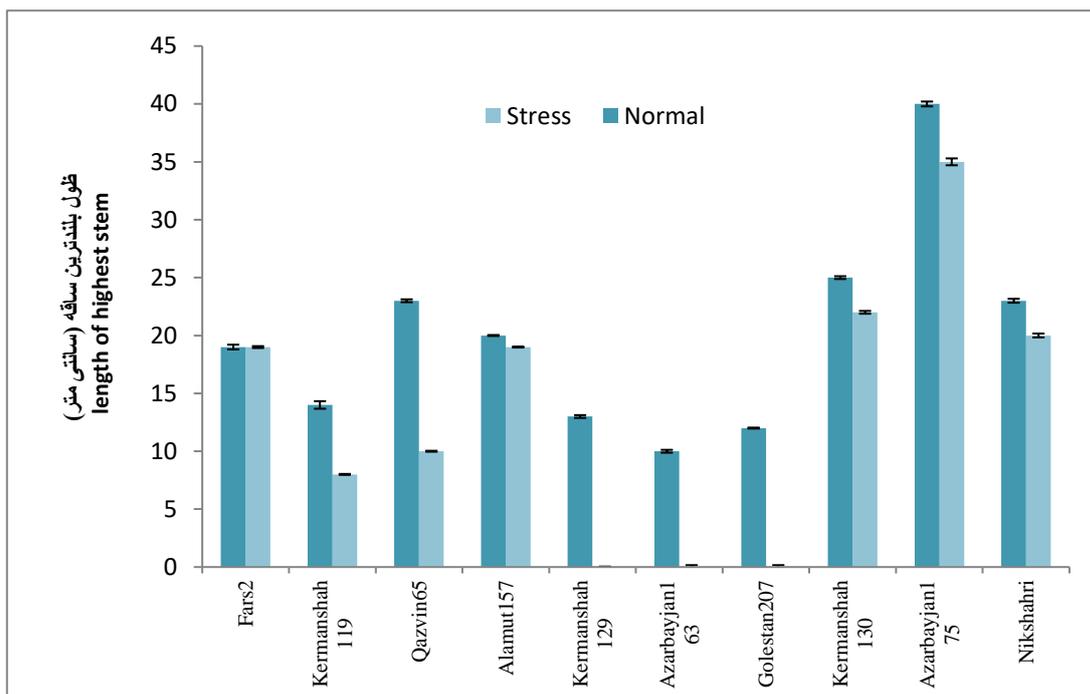
ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Non-significant and significant at 5% and 1% probability level, respectively.



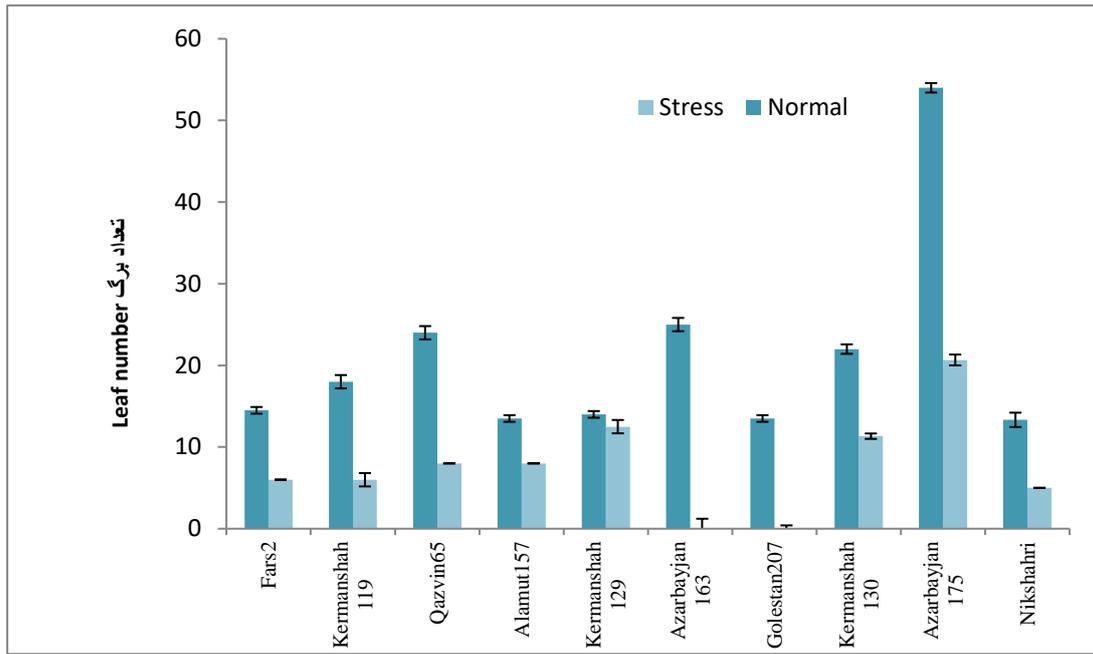
شکل ۱- میانگین تعداد شاخه در ۱۰ ژنوتیپ یونجه در شرایط نرمال و تنش شدید خشکی (ژنوتیپ‌های ۱۲۹، ۱۶۳ و ۲۰۷ در طی اعمال تنش خشکی شدید از بین رفته‌اند)

Figure 1. The average number of branches in 10 alfalfa genotypes under normal conditions and severe drought stress (genotypes 129, 163 and 207 were lost during severe drought stress)



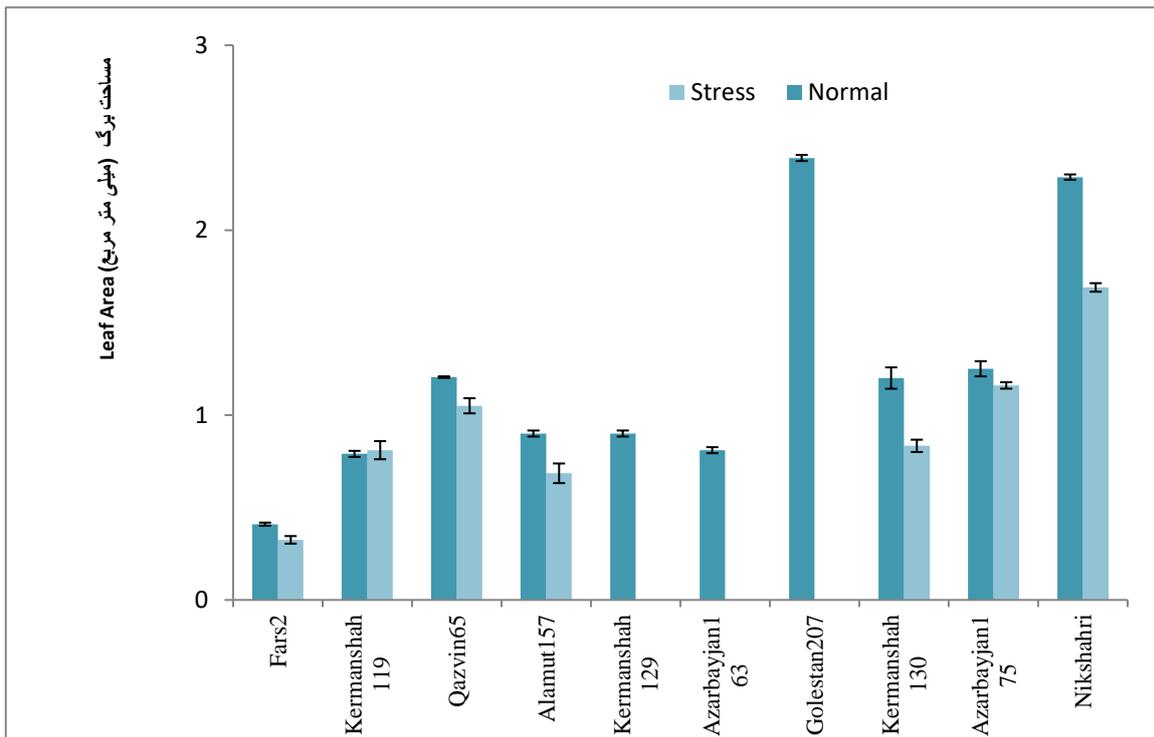
شکل ۲- میانگین طول بلندترین ساقه در ۱۰ ژنوتیپ یونجه در شرایط نرمال و تنش شدید خشکی (ژنوتیپ‌های ۱۲۹، ۱۶۳ و ۲۰۷ در طی اعمال تنش خشکی شدید از بین رفته‌اند)

Figure 2. The average length of highest stem in 10 alfalfa genotypes under normal conditions and severe drought stress (genotypes 129, 163 and 207 were lost during severe drought stress)



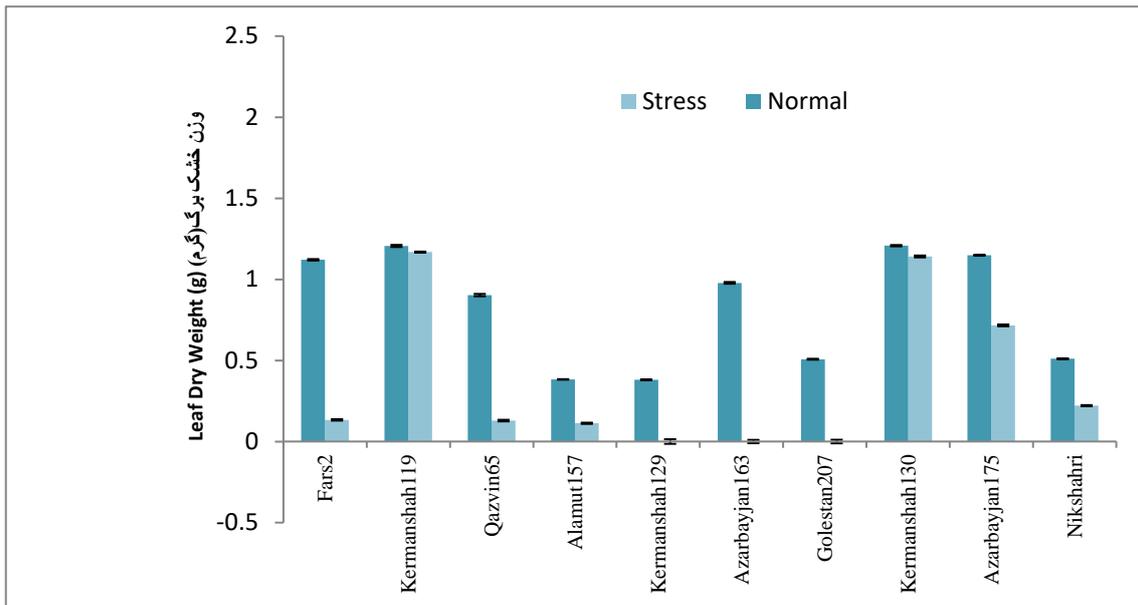
شکل ۳- میانگین تعداد برگ در ۱۰ ژنوتیپ یونجه در شرایط نرمال و تنش شدید خشکی (ژنوتیپ‌های ۱۲۹، ۱۶۳ و ۲۰۷ در طی اعمال تنش خشکی شدید از بین رفته‌اند)

Figure 3. The average number of leaf in 10 alfalfa genotypes under normal conditions and severe drought stress (genotypes 129, 163 and 207 were lost during severe drought stress)



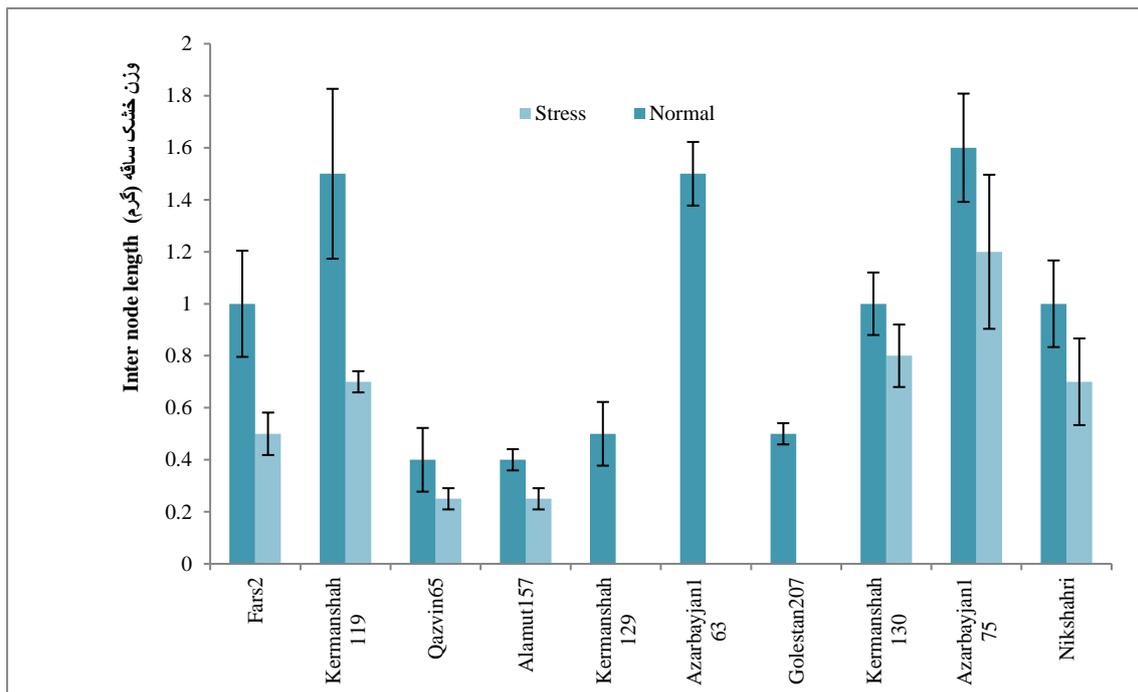
شکل ۴- میانگین مساحت برگ در ۱۰ ژنوتیپ یونجه در شرایط نرمال و تنش شدید خشکی (ژنوتیپ‌های ۱۲۹، ۱۶۳ و ۲۰۷ در طی اعمال تنش خشکی شدید از بین رفته‌اند)

Figure 4. The average of leaf area in 10 alfalfa genotypes under normal conditions and severe drought stress (genotypes 129, 163 and 207 were lost during severe drought stress)



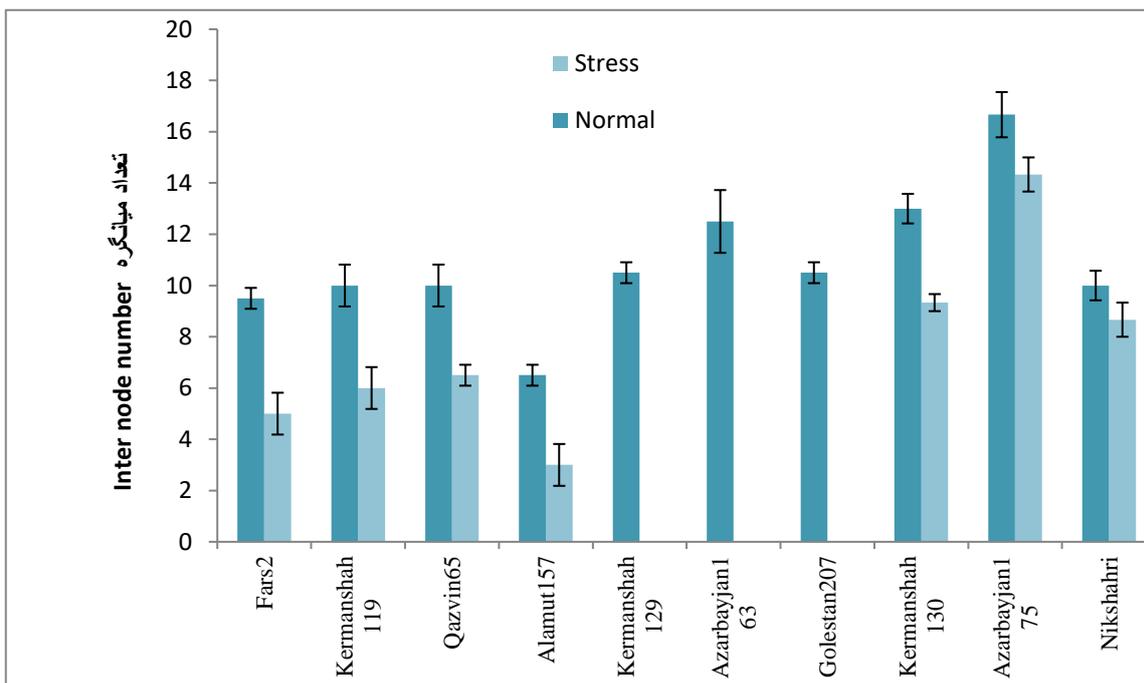
شکل ۵- میانگین وزن خشک برگ در ۱۰ ژنوتیپ یونجه در شرایط نرمال و تنش شدید خشکی (ژنوتیپ‌های ۱۲۹، ۱۶۳ و ۲۰۷ در طی اعمال تنش خشکی شدید از بین رفته‌اند)

Figure 5. The average of dry leaf weight in 10 alfalfa genotypes under normal conditions and severe drought stress (genotypes 129, 163 and 207 were lost during severe drought stress)



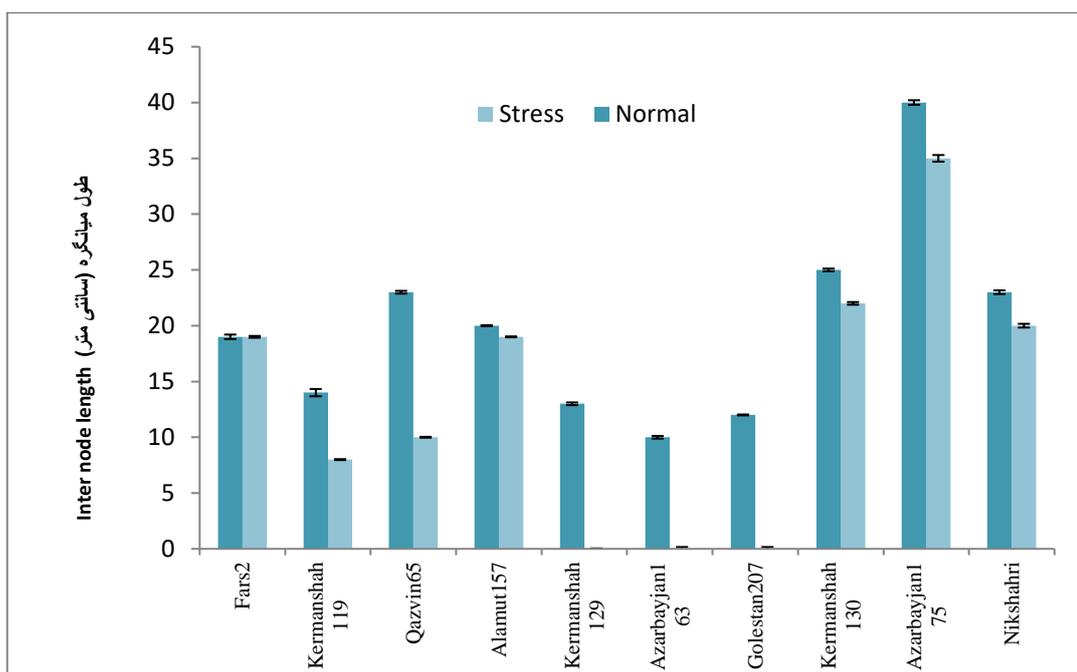
شکل ۶- میانگین وزن خشک ساقه در ۱۰ ژنوتیپ یونجه در شرایط نرمال و تنش شدید خشکی (ژنوتیپ‌های ۱۲۹، ۱۶۳ و ۲۰۷ در طی اعمال تنش خشکی شدید از بین رفته‌اند)

Figure 6. The average of dry stem weight in 10 alfalfa genotypes under normal conditions and severe drought stress (genotypes 129, 163 and 207 were lost during severe drought stress)



شکل ۷- میانگین تعداد میانگره در ۱۰ ژنوتیپ یونجه در شرایط نرمال و تنش شدید خشکی (ژنوتیپ‌های ۱۲۹، ۱۶۳ و ۲۰۷ در طی اعمال تنش خشکی شدید از بین رفته‌اند)

Figure 7. The average number of internode in 10 alfalfa genotypes under normal conditions and severe drought stress (genotypes 129, 163 and 207 were lost during severe drought stress)



شکل ۸- میانگین طول میانگره در ۱۰ ژنوتیپ یونجه در شرایط نرمال و تنش شدید خشکی (ژنوتیپ‌های ۱۲۹، ۱۶۳ و ۲۰۷ در طی اعمال تنش خشکی شدید از بین رفته‌اند)

Figure 8. The average of internode length in 10 alfalfa genotypes under normal conditions and severe drought stress (genotypes 129, 163 and 207 were lost during severe drought stress)

نتیجه‌گیری کلی

ژنوتیپی که در بیشتر صفات مرتبط با تحمل به خشکی برتری نشان دهد می‌تواند در شرایط تنش ایده‌آل باشد (Sairam, et al., 1997). همچنین ارقام یونجه از مکانیزم‌های متفاوتی برای

تحمل به تنش تابعی از فعالیت یک اندام یا یک صفت گیاهی نیست، بلکه برآیندی از کلیه صفات گیاهی است. لذا

جهت شناسایی صفات کلیدی برای بهبود تنش در سایر گونه‌های اصلی گیاهان نیز (Manavalan *et al.*, 2015)؛ (Beena *et al.*, 2021) استفاده شده است. با توجه به اینکه ژنوتیپ‌های وحشی ۱۳۰ (از کرمانشاه) و ۱۷۵ (از آذربایجان غربی) جزو مقاومترین ژنوتیپ‌های این مطالعه بودند می‌توان به‌عنوان منابع جدید مقاومت در برنامه‌های اصلاحی آینده استفاده کرد.

کاهش صدمات ناشی از تنش استفاده می‌کنند، که می‌تواند شامل مکانیزم‌های اجتناب، تحمل و یا ترکیبی از این دو باشد. در این پژوهش در مجموع می‌توان ژنوتیپ‌های کرمانشاه ۱۳۰ و آذربایجان ۱۷۵ را به‌عنوان مقاومترین ژنوتیپ‌ها معرفی نمود این ژنوتیپ‌ها کاهش کمتری در اکثر صفات مورفولوژی مانند وزن خشک ساقه، وزن خشک برگ، وزن تر ساقه، تعداد شاخه، طول بلندترین ساقه، تعداد برگ و طول میانگره در شرایط تنش داشتند. استفاده از اقوام وحشی به‌عنوان منابع ژنتیکی جدید

References

- Anower, M. R., Boe, A., Auger, D., Mott, I. W., Peel, M. D., Xu, L., ... & Wu, Y. (2017). Comparative drought response in eleven diverse alfalfa accessions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(1), 1-13. DOI: 10.1111/jac.12156
- Afsharmanesh, G. (2009). Study of some morphological traits and selection of drought-resistant alfalfa cultivars (*Medicago sativa* L.) in Jiroft, Iran. *Plant Ecophysiology*, 3, 109-118.
- Aranjuelo, I., Irigoyen, J. J., & Sánchez-Díaz, M. (2001, September). Effect of increased temperature and drought associated to climate change on productivity of nodulated alfalfa. In *Quality in lucerne and medics for animal production; In: Proceedings of the XIV Eucarpia Medicago spp. Group Meeting, Zaragoza and Lleida (Spain)* (pp. 12-15).
- Beena, R., Kirubakaran, S., Nithya, N., Manickavelu, A., Sah, R. P., Abida, P. S., ... & Siddique, K. H. (2021). Association mapping of drought tolerance and agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.) landraces. *BMC Plant Biology*, 21, 1-21. DOI: 10.1186/s12870-021-03272-3
- Bonner, D.M. (1997). Comparative water relation and drought tolerance among alfalfa cultivars, Thesis Master of Science, Department of Plant Science University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, 189 pp.
- Buxton, D. R. (1995). Growing quality forages under variable environmental conditions. In *13th Annual Western Canadian Dairy Seminar Conference, Red Deer, Canada* (pp. 123-134).
- Carter, P.R., & Sheaffer, C.C. (1983). Alfalfa response to soil water deficits. I. Growth forage quality, yield, water use, and water-use efficiency. *Crop Science*, 23, 669-675.
- Fernandez, A. L., Sheaffer, C. C., Tautges, N. E., Putnam, D. H., & Hunter, M. C. (2019). Alfalfa, wildlife, and the environment. *National Alfalfa and Forage Alliance*.
- Ghanizadeh, N., Moghaddam, A., & Khodabandeh, N. (2014). Comparing the yield of alfalfa cultivars in different harvests under limited irrigation condition. *International Journal of Biosciences*, 4(1), 131-138.
- Heidari sharif abad, H., & Torknejad, A. (2000). Comparison of forage yield among several alfalfa cultivars in rain-fed regions of Iran. *Iranian Journal of Rangelands and Forest Plant Breeding and Genetics*, 4(1), 117-136.
- Khodarahmpour, Z., & Motamedi, M. (2017). Study of genetic diversity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes via multivariate analysis. *Journal of Crop Breeding*, 8(19), 169-163. [In Persian]
- Lei, Y., Hannoufa, A., & Yu, P. (2017). The use of gene modification and advanced molecular structure analyses towards improving alfalfa forage. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 298.
- Lopes, A. R., Bello, D., Prieto-Fernández, Á., Trasar-Cepeda, C., Manaia, C. M., & Nunes, O. C. (2015). Relationships among bulk soil physicochemical, biochemical, and microbiological parameters in an organic alfalfa-rice rotation system. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(15), 11690-11699.
- Manavalan, L. P., Prince, S. J., Musket, T. A., Chaky, J., Deshmukh, R., Vuong, T. D., ... & Nguyen, H. T. (2015). Identification of novel QTL governing root architectural traits in an interspecific soybean population. *PLoS One*, 10(3), e0120490. DOI: 10.1371/journal.pone.0120490
- Martens, D. (2007). Management of drought stressed alfalfa, Available online at: [http://www. Co.Stearns.Mn.Usldocum-ents/E×T07242007WC.Pdf](http://www.Co.Stearns.Mn.Usldocum-ents/E×T07242007WC.Pdf). Accessed 12 June 2013.
- Monirifar, H., Memarzade, M., Majidi, M., Kanani Notash, R., Sadeghzade, M., Zahi, A., Imani, A., Mirfakhraei, N., & Bairami, H. (2020). Azar, a new variety of alfalfa with optimal quality for cultivation in cold and semi-cold regions. *Baztab*, 2(6), 10-11. [In Persian]
- Monirifar, H., Kanani Notash, R., Sadeghzade, M., Zahi, A. (2023). Introduction of "Nafis" the First Iranian Improved Alfalfa Synthetic Variety. *Journal of Crop Breeding*, 15(47), 30-40. [In Persian]
- Pataki, I., S. Katic, V. Mihailovic, D. Milic, and D. Karagic. (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, 26-28 May, 2003.

- Peter, J., Cerny, V., & Hruska, L. (1988). Yield formation in the main field crop. *Publishing House Czechoslovakia*, 380-390.
- Pilorgé, E., & Muel, F. (2016). What vegetable oils and proteins for 2030? Would the protein fraction be the future of oil and protein crops? *OCL*, 23(4), D402.
- Prince, S., Anower, M. R., Motes, C. M., Hernandez, T. D., Liao, F., Putman, L., Mattson, R., Seethepalli, A., Shah, K., Komp, M., Mehta, P., York, L.M., Young, C., & Monteros, M. J. (2022). Intraspecific Variation for Leaf Physiological and Root Morphological Adaptation to Drought Stress in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Front. Plant Sci*, 13,795011.
- Rahnama, A., Abadou, G., Shoshi Dezfouli, A. A., Danaei, A. K., Tabatabaee, S. A., Miri, K., & Dehghani, A. (2018). "Omid" improved alfalfa population suitable for subtropical regions. *Research Achievements for Field and Horticulture Crops*, 7(1), 63-70. [In Persian]
- Saeed, I. A. M., & A. H. El Nadi. (1997). Irrigation effects on the growth, yield and water use efficiency of alfalfa. *Irrigation Science*, 17(2), 63-68.
- Sairam, R. K., Deshmukh, P. S., & Shukla, D. S. (1997). Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 178(3), 171-178.
- Sheaffer, C. C., Martin, N. P., Lamb, J. F., Cuomo, G. R., Jewett, J. G., & Quering, S. R. (2000). Leaf and stem properties of alfalfa entries. *Agronomy Journal*, 92(4), 733-739.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2005). Plant physiology. Vol. 2. (Trans.). Kafi, M., A. Zand, B. Kamkar, H.R. Sharifi, and M. Goldani. *Mashad Jahad-e Daneshgahi Press*. 379 pp.
- Zamaniyan, M.S., Vakil, R., & Mirzapour. M. H. (2004). The comparison of the yields of five alfalfa cultivars in saline soil. *Seed and Plant Production Journal*, 18(1), 80-88.