

غربالگری مکرر برای گزینش اکوتیپ‌های یونجه متحمل به شوری

حسن منیری فر^۱ و رزیتا مظلومی^۲

۱- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، (نویسنده مسؤول: monirifar@yahoo.com)

۲- محقق، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب و غرب کشور

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۲۴

چکیده

ده اکوتیپ منتخب یونجه در شرایط تحت کنترل شاهد و شوری مورد غربالگری قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین اکوتیپ‌ها از نظر میزان تحمل به شوری اختلاف معنی‌داری وجود دارد. برای اطمینان از نتایج حاصله و انتخاب دقیق‌تر اکوتیپ‌ها، آزمایش بار دیگر تکرار شد و این بار علاوه بر شرایط شاهد، تیمار شوری در دو سطح اعمال گردید. بین اکوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. اثر متقابل اکوتیپ با سطوح شوری برای صفات عملکرد تک بوته در حالت تر و خشک معنی‌دار بود. اکوتیپ‌های قره‌یونجه، بافتان و لغلان برترین اکوتیپ‌ها از نظر ارتفاع بودند و پس از آنها اکوتیپ‌های خواجه و سیوان قرار گرفتند. برترین اکوتیپ‌ها از نظر عملکرد خشک در تیمار شاهد، اکوتیپ‌های قره‌یونجه و خواجه و سپس بافتان و ایلانجوق بودند. در شوری متوسط اکوتیپ‌های خواجه، قره‌یونجه و بافتان برترین اکوتیپ‌ها بودند. در شوری شدید نیز اکوتیپ‌های خواجه، قره‌یونجه و لغلان در برترین رده قرار گرفتند. با در نظر گرفتن کلیه صفات اندازه‌گیری شده اکوتیپ‌های قره‌یونجه، خواجه، بافتان و لغلان اکوتیپ‌های برتر آزمایش تشخیص داده شدند. این اکوتیپ‌ها می‌توانند به عنوان ارقام مناسب برای محیط‌های با تنش شوری متوسط و یا شدید معرفی گردند.

واژه‌های کلیدی: یونجه، تعداد ساقه، عملکرد، تنش شوری

مقدمه

بزرگ‌ترین مشکلات کشاورزی است (۲۲، ۹). افزایش شوری بالاتر از تحمل گیاهان موجب کاهش عملکرد می‌گردد (۱۶، ۱۵، ۱۴، ۸). عملکرد علوفه یونجه به ازاء افزایش هر دسی‌زیمنس بر متر بیشتر از آستانه تحمل، ۷/۳٪ کاهش می‌یابد به طوری که عملکرد علوفه یونجه در شوری 8 dSm^{-1} ، ۸/۹٪، ۵۰٪ کاهش می‌یابد (۱۵).

امروزه وجود شوری در حدود یک سوم از اراضی تحت آبیاری دنیا، عملکرد محصولات زراعی را محدود می‌کند و این مشکل روزبه‌روز گسترش می‌یابد (۲۱، ۱۱). شوری پس از خشکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین تنش‌های محیطی در سطح جهان و از جمله ایران است بخش قابل توجهی از اکوسیستم‌های طبیعی و زراعی دنیا تحت تنش شوری قرار دارد و از

محیط‌های شور، گزینش در سطوح پایین شوری تا متوسط می‌تواند موفق باشد ولی گزینش در شرایط غیرشور احتمالاً غیرموفق خواهد بود.

علاوه بر اینکه وجود تنوع وراثت‌پذیر برای افزایش تحمل به شوری ضروری است ولی فاکتورهای مهمی نیز هستند که در تشخیص جمعیت‌های متحمل باید در نظر گرفته شوند (۲۱، ۲). در بسیاری از گونه‌های گیاهی، میزان تحمل به شوری طی دوره رشد گیاه تغییر می‌کند (۷، ۱۵، ۲۳).

بدلیل چند ساله بودن یونجه ممکن است مکانیسم‌های متفاوت تحمل به شوری در مراحل مختلف رشد در آن دیده شود و در نتیجه ممکن است گزینش برای تحمل به شوری در مراحل اولیه رشد نظیر جوانه‌زنی یا طی مرحله گیاهچه‌ای منجر به ظهور تحمل در مراحل بعدی رشد نظیر پس از چین‌ها نگردد (۱۱). اشرف و همکاران (۶) تنوع ژنتیکی را برای تحمل به NaCl در ۴ گونه علوفه‌ای از جمله یونجه را با کشت در محلول غذائی در مرحله گیاهچه‌ای مورد مطالعه قرار دادند. رشد ساقه در تمامی گونه‌ها پس از دو هفته در محلول ۲۰۰، ۲۲۵ و ۲۵۰ میلی‌مول به شدت کاهش یافت ولی تنوع قابل توجهی بین گیاهچه‌ها وجود داشت. ده هزار بذر از هرگونه در غلظت بالای نمک از نظر رشد با شدت گزینش کمتر از ۱٪ مورد غربالگری قرار گرفتند. آنها با انجام پلی کراس، وراثت‌پذیری واقعی و خصوصی را برآورد نمودند. وراثت‌پذیری واقعی ۳۱٪ و از طریق رگرسیون والد نتاج ۵۲٪ بدست آمد. آنها نتیجه گرفتند

برای بهبود صفت تحمل شوری در گیاهان زراعی می‌توان از تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای از طریق گزینش و اصلاح استفاده کرد (۴). تحمل شوری فرایند پیچیده‌ای است، زیرا تنش شوری موجب از دست دادن آب بافت‌ها، افزایش سمیت یونی، عدم تعادل غذایی و یا ترکیبی از آنها می‌گردد (۵).

مقاومت به شوری یک پدیده پیچیده ژنتیکی و کمی است که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود (۲۳). اساسی‌ترین اقدام در اصلاح گیاهان برای مقاومت به شوری یا تنش‌های محیطی دیگر، ارزیابی ژنوتیپ‌های مختلف در معرض تنش مورد نظر و انتخاب ژنوتیپ‌هایی با تحمل بیشتر است. این روش مستلزم وجود تنوع درون گونه‌ای کافی و وجود روش‌های مناسب برای غربال کردن تعداد زیادی گیاه است. اما ارائه یک روش مناسب برای غربال کردن و شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به دلیل پیچیدگی کنترل ژنتیکی و اثر متقابل ژنوتیپ در محیط و رانده‌شدگی ژنتیکی در پاسخ به شوری مشکل است (۱۸).

جانسون و همکاران (۱۱) تحقیقی را به منظور گزینش برای افزایش عملکرد در سطوح متفاوت شوری با رقم افریکن یونجه با آبیاری با مقادیر ۰، ۳۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌مول نمک NaCl انجام دادند و روش‌های متفاوت گزینشی را مورد بررسی قرار دادند. گزینش تیمار شاهد (بدون نمک) موجب افزایش عملکرد در تیمارهای سطح ۶۰ یا ۸۰ میلی‌مول نمک نگردید. آنها پیشنهاد کردند که در صورت وجود تنوع برای عملکرد در

که پاسخ معنی‌داری برای تحمل گیاهچه‌ها به NaCl از طریق گزینش دوره‌ای می‌تواند بدست آید. آلن و همکاران (۳) نیز تحقیقی را به منظور اصلاح یونجه نسبت به شوری در مرحله جوانی در رقم مسا- سیرسا انجام دادند. پتانسیل محلول نمک برای کاهش جوانه‌زنی و ایجاد ۱٪ جوانه‌زنی طی پنج دوره گزینش، ۱/۴- تا ۲/۴۵- مگاپاسکال بود آنها میزان وراثت‌پذیری عمومی را برای تحمل به نمک طی جوانه‌زنی در کل پنج دوره گزینش، ۵۰٪ بدست آوردند.

هدف از اجرای این پروژه ارزیابی اکوتیپ‌های یونجه امید بخش از نظر تحمل به تنش شوری و دستیابی به رقم یا ارقام یونجه متحمل به شوری بود.

مواد و روش‌ها

با توجه به نتایج آزمایشات و بررسی‌هایی که توسط مجری طرح برای تولید وارسته سنتتیک صورت گرفته است، ۱۰ اکوتیپ برتر انتخاب شدند (۱۹). لیست اکوتیپ‌های مورد بررسی در جدول ۱ آمده است. بررسی‌ها در گلخانه و در شرایط تحت کنترل در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب و غرب کشور طی سال‌های ۱۳۸۷ لغایت ۱۳۹۱ صورت گرفت. بذور در کانتیرهای به ابعاد تقریبی ۳۰×۴ سانتی‌متر کشت شدند. کانتیرها از پرلیت به وزن تقریبی ۶۵ گرم پر شدند. آزمایش در سه تکرار و در هر تکرار حداقل ۳۰ گیاه برای هر تیمار وجود داشت. در هر کانتیر

۲-۳ بذر کاشته و با حدود یک سانتی‌متر پرلیت پوشانده شد و در ۱۴ روزگی در هر کانتیر یک گیاهچه نگهداری شد. کانتیرها برای هر رقم در هر تکرار در دو گروه شاهد و دریافت کننده شوری قرار گرفتند و همه کانتیرها تا ۱۴ روزگی با ۰/۲۵ محلول‌های هوگلند آبیاری شدند و برای تیمارهای بدون شوری این نوع آبیاری در طول آزمایش ادامه یافت ولی کانتیرهای با تیمار شوری، با محلول ۰/۲۵ هوگلند به همراه ۳/۵ گرم در لیتر NaCl آبیاری شدند. عملکرد علوفه تک بوته در هر چین بصورت تر و خشک اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری میزان کلروفیل a و b تحت شرایط تنش و عدم تنش در ژنوتیپ‌های مورد بررسی از برگ‌های توسعه یافته در زمان‌های مختلف استفاده شد. اعداد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به میکروگرم بر میلی‌لیتر غلظت کلروفیل a و b تبدیل شد و در نهایت میزان کل کلروفیل بر حسب mg.g^{-1} ماده‌تر بیان شد (۱۰).

با توجه به اهمیت انتخاب اکوتیپ‌های برتر و لزوم دقت بیشتر، مجدداً آزمایش با تیمار بندی جدید تکرار شد. تیمار اول تیمار شاهد بود که Ec آن معادل Ec محلول هوگلند و برابر دو تنظیم شد و برای تیمارهای شوری متوسط و شدید به ترتیب برابر پنج و نه تنظیم گردید. در هر دو آزمایش میزان ارتفاع، تعداد ساقه، عملکرد تر و خشک در هر گلدان به صورت انفرادی اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- خصوصیات ارقام و اکوتیپ‌های یونجه مورد استفاده در آزمایش

منطقه	نام اکوتیپ	شماره اکوتیپ	Ecotype No.
Origin City	Ecotype		
Ahar	لغلان	۳	۳
Marand	سیوان	۵	۵
Tabriz	ساتلو	۷	۷
Sarab	بافتان	۲۱	۲۱
Ardabil	ایلان‌جوق	۲۲	۲۲
Heris	خواجه	۲۳	۲۳
Varzegan	دیزج‌صفرعلی	۲۵	۲۵
Varzegan	خسرووانق	۲۷	۲۷
Varzegan	الهرد	۲۹	۲۹
Improved Varity	قره‌یونجه	۳۰	۳۰
	Gara-Yonje		

نتایج و بحث

طرح بلوک‌های کامل تصادفی و به صورت

فاکتوریل در جدول ۲ آمده است.

آزمایش اول: نتایج حاصل از تجزیه واریانس

ساده (تک متغیره) صفات مورد مطالعه بر پایه

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس برای صفات مختلف اکوتیپ‌های مورد بررسی یونجه

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع	تعداد ساقه	وزن تر تک بوته	وزن خشک تک بوته
میانگین مربعات (MS)					
بلوک	۲	۱۴۳۴/۷**	۲۱۱/۲**	۱۶۷۱۶/۰**	۴۲۶۴/۰**
اکوتیپ	۹	۵۶۵/۳**	۲۶/۰**	۱۳۳۹۱۸/۰**	۸۵۴۶/۰**
تنش	۲	۳۸۸۰/۱/۱**	۷۳۰/۹**	۸۹۷۹۰۶/۰**	۴۱۸۲۱۹/۰**
اکوتیپ × تنش	۱۸	۲۳۲/۰*	۳/۷*	۱۱۱۹۲/۰**	۲۵۶۳/۰**
خطا	۵۸	۱۰۰/۲	۱/۵	۱۷۰۹/۰	۳۱۲/۰

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

بین بلوک‌ها از نظر کلیه صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌دار وجود داشت که موثر بودن بلوک‌بندی را در بررسی صفات فوق در گلخانه نشان داد. اختلاف بین اکوتیپ‌ها و همچنین شرایط تنش و بدون تنش برای صفات ارتفاع، تعداد ساقه و همچنین عملکرد تک بوته در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود که نشان‌دهنده وجود تنوع بالا در بین

اکوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ این صفات است. اثر متقابل اکوتیپ با شرایط تنش نیز معنی‌دار بود، لذا تجزیه واریانس داده‌ها به صورت جداگانه در هر دو شرایط بدون تنش و با تنش انجام یافت (جدول ۳).

در آزمایش اول و در شرایط بدون تنش بین اکوتیپ‌ها از نظر عملکرد تر اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ولی از نظر صفات

عملکرد خشک و تعداد ساقه در سطح احتمال ۱٪ و از نظر ارتفاع در سطح احتمال ۵٪. اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳ - نتایج تجزیه واریانس برای صفات مختلف اکوتیپ‌های مورد بررسی یونجه در شرایط بدون تنش و تنش

منابع تغییر		درجه آزادی		ارتفاع		تعداد ساقه		وزن تر تک بوته		وزن خشک تک بوته	
شوری		شاهد		شوری		شاهد		شوری		شاهد	
بلوک		۲		۷۸۴/۱**		۱۷/۸**		۳۸۱۴۰/۰*		۲۳۹۵/۰*	
اکوتیپ		۹		۲۳۴/۸*		۱۲/۹**		۱۲۱۸۱/۰ ^{ns}		۵۴۴۶/۰**	
خطا		۵۸		۱۲۱/۸		۲/۳		۹۵۵۶/۰		۷۸۰/۷	

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

نشان دادند. بیشترین عملکرد خشک تک بوته متعلق به اکوتیپ‌های ساتلو، بافتان، لغلان و قره‌یونجه بود (جدول ۴). در آزمایش اول در شرایط تنش، بین اکوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. مقایسه میانگین اکوتیپ‌ها از نظر صفات اندازه‌گیری شده با آزمون دانکن در شرایط تنش نیز در جدول ۴ ارائه شده است. در شرایط تنش گروه‌های معنی‌داری از نظر ارتفاع نسبت به شرایط غیر تنش بیشتر شد و اکوتیپ‌ها تنوع بیشتری نشان دادند.

نوبل و همکاران (۲۰) در مطالعه اثرات نمک روی یونجه‌هایی که از مناطق مختلف استرالیا جمع‌آوری شده بودند دریافتند با افزایش تحمل به شوری در یونجه، هم در داخل توده‌ها و هم در بین توده‌ها، وزن خشک ساقه و ریشه، تعداد ساقه و ارتفاع ساقه اصلی نیز افزایش می‌یابد. این واکنش، اثر

اصلاح برای تحمل تنش شوری در بسیاری از گیاهان از جمله یونجه دارای پیشرفت اندکی بوده است (۲۰، ۱۱، ۷) ولی وجود تنوع فنوتیپی برای تحمل به شوری در ارقام یونجه گزارش شده است (۱۲، ۸). مطالعات قبلی نشان داده است که بدلیل وجود تنوع ژنتیکی، گزینش حتی در مرحله جوانه‌زنی (۳)، در مرحله گیاهچه‌ای (۷) و مرحله قبل از گلدهی (۲۰) نیز موفقیت‌هایی به همراه داشته است.

مقایسه میانگین اکوتیپ‌ها با آزمون دانکن از نظر صفاتی که اختلاف معنی‌دار داشتند در جدول ۴ ارائه شده است. چنانچه ملاحظه می‌شود از نظر ارتفاع سه گروه معنی‌دار تشکیل یافت و اکوتیپ‌های ساتلو، لغلان، بافتان و قره‌یونجه جزو اکوتیپ‌های برتر در شرایط بدون تنش بودند. اکوتیپ‌های قره‌یونجه، بافتان، الهرد و خسروانق بیشترین تعداد ساقه را در شرایط بدون تنش از خود

غیرمستقیم مکانیسم‌های فیزیولوژیکی تحمل به شوری است که در کاهش اثرات زیان‌آور شوری در رشد گیاهان عمل می‌کنند. در یک مطالعه دیگر مشخص گردید.

همانند شرایط بدون تنش، اکوتیپ‌های بافتان، قره‌یونجه و ساتلو جزو اکوتیپ‌های برتر از نظر ارتفاع ساقه بودند و اکوتیپ ایلانجوق که در شرایط غیر تنش در رده دوم از آخر قرار گرفته بود، در شرایط تنش عکس‌العمل متفاوت از خود نشان داد و جزو اکوتیپ‌های برتر قرار گرفت. اکوتیپ قره‌یونجه برترین اکوتیپ از نظر تعداد ساقه بود و در یک گروه

مجزا قرار گرفت و اکوتیپ‌های بافتان، ساتلو و الهرد در رده بعدی قرار گرفتند. از نظر عملکرد تر، اکوتیپ‌های قره‌یونجه، بافتان و ایلانجوق و از نظر عملکرد خشک اکوتیپ‌های ساتلو، قره‌یونجه، بافتان و ایلانجوق در رده‌های برتر قرار گرفتند. به نظر می‌رسد اکوتیپ‌های فوق را می‌توان به عنوان اکوتیپ‌های برتر آزمایش اول انتخاب کرد ولی با توجه به مهم بودن انتخاب و درک بیشتر از پاسخ اکوتیپ‌ها به تنش شوری و دقت بیشتر، آزمایش دوم انجام یافت.

جدول ۴- مقایسه میانگین اکوتیپ‌های یونجه در شرایط بدون تنش (شاهد) و تنش شوری (آزمایش اول) از نظر صفات اندازه‌گیری شده

نام اکوتیپ	ارتفاع (سانتی‌متر)		تعداد ساقه		وزن خشک تک بوته (گرم)		وزن تر تک بوته (گرم)
	شاهد	شوری	شاهد	شوری	شاهد	شوری	شوری
لغلان	۲۸/۵ ^{ab}	۱۲/۷ ^{cd}	۳/۵ ^{cd}	۲/۳ ^c	۷۰۰/۶ ^{bc}	۲۱۶/۷ ^{cde}	۷۵۷/۷ ^e
سیوان	۲۴/۱ ^{abc}	۹/۵ ^e	۳/۵ ^{cd}	۱/۷ ^e	۵۱۳/۷ ^{de}	۱۱۶/۳ ^g	۵۶۳/۶ ^f
ساتلو	۲۹/۴ ^a	۱۴/۵ ^{bc}	۴/۱ ^{bc}	۲/۶ ^b	۸۵۶/۵ ^a	۳۱۱/۱ ^a	۱۰۷۹/۱ ^{cd}
بافتان	۲۷/۴ ^{abc}	۱۶/۷ ^a	۴/۸ ^{ab}	۲/۷ ^b	۷۶۱/۷ ^{ab}	۲۳۷/۴ ^{bc}	۱۲۵۰/۱ ^b
ایلان جوق	۲۲/۱ ^{ab}	۱۵/۷ ^{ab}	۳/۵ ^{cd}	۲/۳ ^c	۵۵۳/۴ ^{cd}	۲۳۱/۹ ^{bcd}	۱۱۶۲/۷ ^{bcd}
خواجه	۲۴/۲ ^{abc}	۱۲/۵ ^{cd}	۲/۹ ^d	۱/۹ ^{de}	۳۹۵/۳ ^e	۱۷۶/۹ ^f	۱۷۶/۹ ^f
دیزج صفر علی	۲۲/۳ ^{ab}	۸/۱ ^e	۳/۷ ^{cd}	۲/۰ ^{cd}	۵۶۱/۸ ^{cd}	۱۳۸/۱ ^g	۱۳۸/۱ ^g
خسرووانق	۲۴/۲ ^{abc}	۱۱/۱ ^{de}	۴/۲ ^{abc}	۲/۲ ^c	۵۶۱/۸ ^{cd}	۲۰۳/۳ ^{def}	۲۰۳/۳ ^{def}
الهرد	۲۱/۴ ^c	۱۲/۸ ^{cd}	۴/۶ ^{ab}	۲/۶ ^b	۵۳۰/۳ ^{de}	۱۹۰/۸ ^{ef}	۱۹۰/۸ ^{ef}
قره‌یونجه	۲۶/۶ ^{abc}	۱۴/۶ ^{bc}	۵/۰ ^a	۲/۹ ^a	۵۶۲/۶ ^{bcd}	۲۵۴/۵ ^b	۲۵۴/۵ ^b

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می‌باشند.

آزمایش دوم: در آزمایش دوم بین اکوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار مشاهده شد و همچنین بین سطوح شوری از نظر میزان

کلروفیل در سطح احتمال ۵٪ و از نظر بقیه صفات در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت. اثر متقابل اکوتیپ با سطوح شوری برای صفات عملکرد تک بوته در

حالت تر و خشک در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۵).
معنی‌دار بود ولی برای سایر صفات غیر

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس برای صفات مختلف اکوتیپ‌های مورد بررسی یونجه در سطوح متفاوت شوری

میانگین مربعات (MS)						
منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع	تعداد ساقه	وزن تر تک بوته	وزن خشک تک بوته	میزان کلروفیل
بلوک	۲	۹۹۳/۱**	۱۲/۴**	۱۰۳/۸**	۱۹/۴**	۶۰۵/۲**
اکوتیپ	۹	۲۷۳۰/۸**	۲۲/۱**	۳۲۲/۱**	۳۲/۵**	۲۸۶/۱**
تنش	۲	۶۴۰۷۱/۲**	۳۱۶/۲**	۹۲۰۵/۹**	۹۳۴/۷**	۲۱۳/۶*
اکوتیپ × تنش	۱۸	۲/۵ ^{ns}	۵/۲ ^{ns}	۳۲/۲*	۳/۹*	۱۰۷/۷ ^{ns}
خطا	۵۸	۱۱۵/۳	۱/۸	۱۷/۲	۲/۰	۶۹/۹

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۶ ارائه شده است. اکوتیپ‌های قره‌یونجه، بافتان و لغلان برترین اکوتیپ‌ها از نظر ارتفاع بودند و پس از آنها، اکوتیپ‌های خواجه و سیوان قرار گرفتند. ترتیب برتری در مورد تعداد ساقه تقریباً همانند ارتفاع بود و همچنان اکوتیپ‌های قره‌یونجه، خواجه، لغلان و بافتان برتر بودند و اکوتیپ‌های ساتلو و خسروانق در رده بعدی قرار گرفتند (جدول ۶).

وایزمن و همکاران (۲۴) دو واریته یونجه به نامهای موپا و مسیلا را در محلول‌های شور با هدایت الکتریکی ۰/۸ تا ۳۲ میلی‌موز بر سانتیمتر مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری تحت تأثیر شوری و واریته زراعی قرار می‌گیرد، اما اثر متقابل بین شوری و واریته زراعی در آزمایش آنها نیز معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین بین اکوتیپ‌ها از نظر صفات ارتفاع، تعداد ساقه و میزان کلروفیل در

جدول ۶- مقایسه میانگین اکوتیپ‌های یونجه در آزمایش از نظر ارتفاع، تعداد ساقه و محتوای کلروفیل

نام اکوتیپ	ارتفاع	تعداد ساقه	میزان کلروفیل (میلی‌گرم/ گرم)
لغلان	۵۶/۰ ^a	۵/۲ ^a	۴۷/۹ ^{ab}
سیوان	۵۰/۱ ^{bc}	۴/۲ ^{bc}	۴۴/۷ ^{bcd}
ساتلو	۴۷/۹ ^{cd}	۴/۴ ^b	۴۵/۳ ^{abc}
بافتان	۵۷/۳ ^a	۴/۹ ^a	۴۶/۲ ^{abc}
ایلان‌جوق	۴۵/۳ ^{de}	۴/۲ ^{bc}	۴۴/۱ ^{cd}
خواجه	۵۲/۱ ^b	۵/۲ ^a	۴۱/۳ ^d
دیزج‌صفرعلی	۴۱/۶ ^{ef}	۳/۸ ^c	۴۴/۰ ^{cd}
خسروانق	۴۲/۹ ^{ef}	۴/۴ ^b	۴۶/۷ ^{abc}
الهرد	۴۱/۰ ^f	۳/۹ ^{bc}	۴۳/۱ ^{cd}
قره‌یونجه	۵۸/۵ ^a	۵/۵ ^a	۴۸/۷ ^a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می‌باشند.

اکوتیپ‌ها به میزان‌های مختلف شوری، در سه سطح شاهد، شوری متوسط و شوری شدید تجزیه واریانس جداگانه صورت پذیرفت (جدول ۷).

با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل اکوتیپ‌ها با سطوح شوری برای صفات عملکرد تر و خشک مقایسه میانگین هر دو صفت به صورت جداگانه در تیمار شاهد و شوری متوسط و شدید به طور جداگانه انجام یافت (جدول ۸).

در تیمار شاهد اکوتیپ‌های قره‌یونجه، خواجه و بافتان بیشترین عملکرد تر را نشان دادند و اکوتیپ لغلان در مرتبه بعدی قرار گرفت. در تیمار شوری متوسط، اکوتیپ‌های قره‌یونجه و بافتان بهترین بودند و پس از آنها اکوتیپ‌های لغلان، خواجه و سپس ایلانجوق قرار گرفت. ترتیب برتری اکوتیپ‌ها در شوری شدید تقریباً همانند شوری متوسط بود و اکوتیپ‌های قره‌یونجه، خواجه و بافتان و سپس لغلان در برترین مرتبه قرار گرفتند (جدول ۸).

همبستگی میزان کلروفیل تنها در تیمار بدون تنش با صفات تعداد ساقه و ارتفاع در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (به ترتیب برابر ۰/۲۲۰ و ۰/۳۰۵) و با بقیه صفات و در دو سطح تنش متوسط و شدید غیر معنی‌دار بود (جدول همبستگی ارائه نشده است). اکوتیپ‌های قره‌یونجه و لغلان بیشترین میزان کلروفیل را داشتند و کمترین میزان متعلق به اکوتیپ خواجه بود (جدول ۶).

گزارشات مختلفی در خصوص میزان کلروفیل در گیاهان تحت تنش وجود دارد (۱)، خان و همکاران (۱۳) گزارش کردند که میزان کلروفیل در ژنوتیپ‌های گندم تحت شرایط تنش کاهش می‌یابد ولی آلاقمیر و علی (۱) افزایش میزان کلروفیل در شش ژنوتیپ برنج را مشاهده کردند. در این تحقیق نیز ارتباط معنی‌داری بین میزان کلروفیل و سطوح تنش مشاهده نگردید.

با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل اکوتیپ‌ها با سطوح شوری برای صفات عملکرد تر و خشک و به منظور درک بهتر پاسخ

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس برای صفات مختلف اکوتیپ‌های مورد بررسی یونجه در تیمارهای مختلف متفاوت شوری

میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	شاهد		شوری متوسط		شوری شدید
		وزن تر تک	وزن خشک	وزن تر تک	وزن خشک	وزن تر تک
		بوته	تک بوته	بوته	تک بوته	بوته
بلوک	۲	۱۹۵/۷ ^{**}	۲۸/۲ ^{**}	۱۲/۴ ^{ns}	۸/۵ [*]	۲/۶ ^{ns}
اکوتیپ	۹	۲۲۷/۷ ^{**}	۲۴/۱ ^{**}	۱۳۰/۲ ^{**}	۱۳/۴ ^{**}	۳۲/۵ ^{**}
خطا	۱۸	۲۶/۴	۳/۲	۱۷/۷	۲/۰	۶/۳

ns و * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

همبستگی عملکرد تر و خشک در سطوح شاهد، شوری متوسط و شدید به ترتیب برابر ۰/۹۱۴، ۰/۹۰۵ و ۰/۸۰۳ و در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود بنابراین ترتیب اکوتیپ‌ها از نظر عملکرد خشک مطابقت بیشتری با عملکرد تر داشت.

برترین اکوتیپ‌ها از نظر عملکرد خشک در تیمار شاهد، اکوتیپ‌های قره‌یونجه و خواجه و سپس بافتان و ایلانجوق بود. در شوری متوسط اکوتیپ‌های خواجه، قره‌یونجه و بافتان برترین اکوتیپ‌ها بودند و اکوتیپ لغلان در مرتبه بعدی قرار گرفت. در شوری شدید نیز اکوتیپ‌های خواجه، قره‌یونجه و لغلان در برترین رده قرار گرفتند و پس از آنها اکوتیپ‌های بافتان و ساتلو قرار گرفت. اکوتیپ ساتلو در تیمار شاهد و شوری متوسط در رده‌های برتر قرار نگرفت، ولی در تیمار شوری شدید عکس‌العمل مناسبی نشان داد و بخشی از وجود اثر متقابل می‌تواند به واکنش این اکوتیپ مربوط باشد (جدول ۸).

الخطیب و همکاران (۲) چهار رقم یونجه را از طریق کشت در محلول شور با غلظت ۲۵۰ میلی‌مول NaCl مورد بررسی قرار دادند. گیاهچه‌ها بر اساس اختلاف رشد پس از دو هفته رشد مورد گزینش قرار گرفتند. یازده گیاه از رقم CUF 101 و ۱۰ گیاه از رقم محلی سوریه رشد داده شد و پلی‌کراس گردیدند. گیاهچه‌های لاین‌های گزینش شده توانستند در محلول‌هایی تا غلظت ۲۷۵ میلی‌مول NaCl تولید ساقه نمایند در حالیکه مواد غیر منتخب

نتوانستند در محلول نمک بالاتر از ۲۲۵ میلی‌موس تولید ساقه نمایند. در نهایت لاین‌های گزینشی برتر نسبت به مواد شاهد غیرمنتخب به طور معنی‌داری وزن تر، وزن خشک و ماده خشک و درصد وزن ساقه تر بیشتر تولید کردند. گزینش انجام یافته بطور مشخص توانست گیاهچه‌هایی را که از نظر تحمل به NaCl دارای مشکل هستند را متمایز سازد که در گیاهان حاصل از پلی‌کراس افراد منتخب بروز یافت. پیل و همکاران (۲۱) نیز گزینش برای تحمل به شوری را در رقم CUF 101 انجام دادند. آنها ملاحظه نمودند که بین بوته‌های ارقام فوق از نظر تولید ماده خشک، طول و تعداد ساقه و صدمه برگ، طی ۷۰ روز رشد تحت تنش شوری با ۲۵۰ میلی‌مول نمک تنوع وجود دارد.

با توجه به اینکه، تحمل به تنش شوری در ارقام می‌تواند به شکل افزایش در میزان کلی عملکرد و یا نسبت عملکرد بروز یابد (۱۷)، بنابراین با در نظر گرفتن کلیه صفات اندازه‌گیری شده به ویژه با تاکید بر عملکرد، اکوتیپ‌های قره‌یونجه، خواجه، بافتان و لغلان سه اکوتیپ برتر آزمایش تشخیص داده شدند که در سه شرایط (شاهد، شوری متوسط و شدید) نسبت به سایر اکوتیپ‌های مورد بررسی برتر و اختلاف معنی‌دار داشتند. این اکوتیپ‌ها می‌توانند به عنوان ارقام مناسب برای محیط‌های با تنش شوری متوسط و یا شدید معرفی گردند.

جدول ۸- مقایسه میانگین اکوتیپ‌های یونجه در آزمایش از نظر عملکرد وزن تک بوته (گرم) در سطوح متفاوت شوری

نام اکوتیپ	شاهد		شوری متوسط		شوری شدید	
	عملکرد تر	عملکرد خشک	عملکرد تر	عملکرد خشک	عملکرد تر	عملکرد خشک
لغلان	۲۳/۹ ^{bc}	۷/۷ ^{cde}	۱۷/۴ ^{ab}	۵/۳ ^{abc}	۱۰/۱ ^{ab}	۳/۶ ^{ab}
سیوان	۲۰/۷ ^{cd}	۷/۴ ^{cd}	۱۳/۷ ^c	۴/۶ ^{cde}	۹/۶ ^{ab}	۳/۱ ^{bc}
ساتلو	۱۹/۸ ^d	۶/۶ ^{de}	۱۳/۳ ^c	۴/۳ ^{cde}	۹/۶ ^{ab}	۳/۲ ^{bc}
بافتان	۲۶/۳ ^{ab}	۸/۱ ^{bc}	۱۸/۳ ^a	۵/۷ ^{ab}	۱۰/۷ ^a	۳/۲ ^{bc}
ایلان جوق	۲۲/۳ ^{cd}	۷/۴ ^{cd}	۱۴/۷ ^{bc}	۴/۹ ^{bcd}	۸/۴ ^{bc}	۳/۰ ^{cd}
خواجه	۲۵/۹ ^{ab}	۸/۸ ^{ab}	۱۷/۳ ^{ab}	۶/۰ ^a	۱۰/۹ ^a	۳/۸ ^a
دیزج صفر علی	۱۸/۹ ^d	۶/۰ ^e	۱۱/۹ ^c	۳/۸ ^e	۷/۸ ^c	۲/۵ ^e
خسرووانق	۲۱/۳ ^{cd}	۶/۸ ^{de}	۱۲/۷ ^c	۴/۲ ^{de}	۸/۷ ^{bc}	۲/۸ ^{cd}
الهرد	۱۹/۹ ^d	۶/۵ ^{de}	۱۲/۲ ^c	۳/۸ ^e	۷/۷ ^c	۲/۷ ^{cd}
قره یونجه	۲۸/۸ ^a	۹/۳ ^a	۱۸/۰ ^a	۵/۷ ^{ab}	۱۱/۲ ^a	۳/۶ ^{ab}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می‌باشند.

منابع

1. Alamgir, A.N.M. and M.Y. Ali. 1999. Effect of salinity on leaf pigments, sugar and protein concentrations and chloroplast ATPase activity of rice (*Oryza sativa* L.). Bangle. Journal of Botany, 28: 145-149.
2. AL-Khatib, M., T. McNeilly and J.C. Collins. 1993. The potential of selection and breeding for improved salt tolerance in Lucerne (*Medicago sativa* L.). Euphytica, 65: 43-51.
3. Allen, S.Q., A.K. Dobrenz, M. Scharnhorst and J.E.A. Stoner. 1986. Heritability of NaCl tolerance in germinating alfalfa seeds. Agronomy Journal, 77: 99-105.
4. Ashraf, M. and T. McNeilly. 2004. Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Reviews in Plant Science, 23: 127-214.
5. Ashraf, M., N. Nazir and T. McNeilly. 2001. Comparative salt tolerance of amphidiploids and diploid *Brassica* species. Plant Science, 160: 683-689.
6. Ashraf, M., T. McNeilly and A.D. Bradshaw. 1987. Selection and heritability of tolerance selection and heritability of tolerance to sodium chloride in four forage species. Crop Science, 227: 232-234.
7. Blum, A. 1988. Plant breeding for stress environments. CRC Press, Boca Ration, FL.
8. Bresler, E. 1987. Application of conceptual model to irrigation water requirement and salt tolerance of crops. Soil Science Society of American Journal, 51: 788-793.
9. Choukr, A.R. 1996. The potential halophytes in the development and rehabilitation of arid and semiarid zones Halophytes and Biosalin Agriculture, pp: 3-13.
10. Doinisio-sese, M.L. and S. Tobita. 2000. Effects of salinity on sodium content and photosynthetic responses of rice seedlings differing in salt tolerance Journal Plant Physiol, 157: 54-58.
11. Johnson, D.W., S.E. Smith and A.K. Dobrenz. 1992. Genetic and phenotypic relationships in response to NaCl at different development stages in alfalfa. Theoretical and Applied Genetics, 83: 833-838.
12. Kapulink, Y., L.R. Teuber and D.A. Phillips. 1989. Lucerne (*Medicago sativa* L.) selected for vigor in non saline environment maintained growth under salt stress. Australian Journal of Agricultural Research, 40: 1253-1259.

13. Khan, M.A., M.U. Shirazi, M.A. Khan, S.M. Mujtaba, E. Islam, S. Mumtaz, A. Shereen, R.U. Ansari and M. Yasin Ashraf. 2009. Role of proline, K/Na ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). Pakistan Journal of Botany, 41(2): 633-638.
14. Letey, J., A. Dinar and K.C. Knapp. 1985. Crop- water production function model for saline irrigation waters. Soil Science Society of American Journal, 49: 1005-1009.
15. Mass, E.V. 1987. Salt tolerance of plants. In: B. R. Christie (ed.) CRC Handbook of Plant Science in Agriculture. Vol II. CRC Press, Boca Ranton, FL. 57-75 pp.
16. Mass, E.V. 1990. Crop salt tolerance. In: K. K. Tanji (ed) Agricultural Salinity Assessment and Management. ASSCE Manuals and Reports on Engineering practice No. 71. American Society Civil Engineers, New York.
17. Mass, E.V. and G.J. Hoffman. 1977. Crop salt tolerance current assessment. J. Irri. Drainage Div. American Society of Civil Engineers, 103: 115-134.
18. Mir Mohammadi Meibodi, S.A.M. and B. Garayazi. 2002. Physiological aspects of salinity and Crop Breeding. Publication of Jahad Daneshgahi, Isfahan University of Technology, Iran. 127-129. (In Persian)
19. Monirifar, H. 2010. Half-sib progeny test for selection of best parents for development of a synthetic variety of alfalfa. Iran. Journal of Crop Science, 12(1): 66-75. (In Persian)
20. Noble, C.L., G.M. Halloran and D.W. West. 1984. Identification and selection for salt tolerance in Lucerne (*Medicago sativa* L.). Australian Journal of Agricultural Research, 35: 239-252.
21. Peel, M.D., B.L. Waldron, K.B. Jensen, N.J. Chatterton, H. Horton and L.M. Dudley. 2004. Screening for salinity tolerance in alfalfa: a repeatable method. Crop Science, 44: 2049-2053.
22. Saheli, M., F. Salehi, K. Poustini and H. Heidari-Sharifapbad. 2008. The effect of salinity on the nitrogen fixation in 4 cultivars of *Medicago sativa* L. in the seedling emergence stage. Research Journal of Agricultural and Biological Sciences, 4(5): 413-415.
23. Shannon, M.C. 1997. Adaptation of plants to salinity .In: Sparks, D. (ed.). Advances in agronomy. Academic press, 75-120 pp.
24. Waissman, A. and N.S. Miyamoto. 1987. Salt effects on alfalfa seedling emergence. Journal of Agronomy, 79: 710-714.

Repeated Screening for Selection of Salt Tolerant Alfalfa Ecotypes

Hassan Monirifar¹ and Rozita Mazlomi²

1- Assistant Professor, Natural Resources Research Center of East Azarbaijan
(Corresponding author: monirifar@yahoo.com)

2- Researcher, Agricultural Biotechnology Research Institute of North-West
Received: April 19, 2013 Accepted: September 15, 2013

Abstract

Ten promising alfalfa ecotypes were evaluated in normal and salty conditions. Various agro-morphological traits of ecotypes such as plant height, number of stem, chlorophyll (CHL) amounts and yield were measured in normal and salt stress conditions. Analysis of variance showed that the responses were significantly different among ecotypes. To ensure results accuracy and ecotypes selection, the experiment was repeated once again and salinity treatments were applied at two levels. The results indicated that the response was significantly different among cultivars. Gara-Yonje, Baftan and Leghlan ecotypes were the best for plant height, however, the results for number of stems were similar. Gara-Yonje and Leghlan had the most CHL but Khaje ecotype produced the shortest height. In salt-free conditions, Gara-Yonje, Khaje and Baftan had the most individually fresh yield. Gara-Yonje and Baftan were the best in moderate salty conditions. Ecotypes in severe salty conditions for fresh yield were similar to moderate conditions and again Gara-Yonje, Khaje, Baftan and Leghlan were the best. Considering all measured traits, particularly with emphasis on yield, Gara-Yonje, Khaje, Baftan and Leghlan can be selected for moderate and severe salty conditions.

Keywords: Alfalfa, Shoot number, Plant yield, Salt stress