DOI: http://dx.doi.org/10.22092/aj.2016.106741

نشریه زراعت شماره ۱۰۹، زمستان ۱۳۹۴

(پژوهش و سازندگی)

بررسی اثر تنش شوری بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه ها و ارتباط آن با تحمل به شوری ارقام یونجه در شرایط مزرعه

- انسیه اشرفی، دانشگاه صنعتی اصفهان (نویسنده مسئول)
- جمشید رزمجو، دانشگاه صنعتی اصفهان
- مرتضی زاهدی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۱۳۹۴

پست الکترونیک نویسنده مسئول: e.ashrafi@ag.iut.ac.ir

چکیده

تنش شوری بر رشد یونجه (*Medicago sativa*) از مرحله جوانه زنی و رشد گیاهچه تا میزان علوفه خشک اثر می گذارد. بنابراین انتخاب واریته های متحمل به شوری و درک مکانیسم های احتمالی در تحمل به شوری در مرحله آزمایشگاهی و مزرعه ای امکان تولید بیشتر و گسترش کشت این گیاه در خاک های شور کشور را فراهم می کند. بنابراین این آزمایش برای ارزیابی ۹ رقم یونجه (رنجر، بمی، یزدی، نیکشهری، قره یونجه، اصفهانی، پایونیر، رهنانی و همدانی) و بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در مرحله جوانه زنی و گیاهچه ای و اندازه گیری ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین این ارقام در شرایط تنش شوری (۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم) در مزرعه انجام شد. طول و وزن خشک ریشه چه و ساقه چه تحت تیمارهای شوری کاهش یافت. واریته های رهنانی و اصفهانی متحمل ترین و واریته های پایونیر و بمی حساس ترین واریته ها نسبت به شوری بودند. در واریته های متحمل به شوری میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، پراکسیداز (POX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) حداکثر و در واریته های حساس به شوری حداقل بود. میزان مالون دآلدئید (MDA) در واریته های متحمل به شوری در مقایسه با واریته های حساس به شوری، کمتر بود. رقم رهنانی در چین سوم بیشترین (۶/۴ تن در هکتار) میزان علوفه خشک را تولید کرده است در حالیکه رقم بمی کمترین (۰/۷ تن در هکتار) میزان علوفه خشک را به خود اختصاص داد. بین میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده در مرحله گیاهچه ای و تحمل به شوری در مزرعه ارتباط و همبستگی قابل قبولی وجود دارد. ارقام رهنانی و اصفهانی که بیشترین سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را در گیاهچه یونجه دارا بودند، بیشترین تحمل به شوری را نیز طی چین های مختلف در مزرعه نشان دادند. ارقام رهنانی و اصفهانی با میزان کمتر MDA همراه با فعالیت بالاتر آنتی اکسیدان ها در شرایط شوری، دارای ظرفیت بالاتری جهت حذف گونه های فعال اکسیژن تولیدی و ثبات عملکرد بهتری در مقایسه با ارقام حساس می باشند. همچنین با توجه به اینکه افزایش فعالیت آنتی اکسیدان ها بیان کننده افزایش حذف گونه های فعال اکسیژن می باشد، لذا اغلب از این ویژگی به عنوان یک شاخص قابل اعتماد جهت بیان افزایش تحمل شوری استفاده می شود. بنابراین به منظور توسعه سطح کشت ارقام یونجه در مناطق شور و یا اصلاح ارقام حساس به شوری می توان از نتایج این تحقیق بهره مند شد.

کلمات کلیدی: آنزیم های آنتی اکسیدان، پراکسیداسیون لیپیدها، تنش شوری، علوفه خشک، یونجه (*Medicago sativa* L.)

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No:108 pp: 43-56

The effect of salt stress on biochemical traits and relation with salt tolerant of alfalfa cultivars in field

By:

- *E. Ashrafi , (Corresponding Author), Isfahan University of Technology*
- *J. Razmjoo, Isfahan University of Technology*
- *M. Zahedi, Isfahan University of Technology*

Received: April 2012 **Accepted: April 2015**

Salt stress affects alfalfa growth especially at germination and seedling stages. Therefore, selection of salt tolerant cultivars and find possible mechanisms of salt tolerant are important at these stages. This experiment was conducted to evaluate nine alfalfa cultivars including *Rehnani, Esfahani, Gharehyonje, Ranjer, Hamedani, Yazdi, Nikshahri, Pioneer and Bami* for the salt tolerant and enzymes activities at germination and seedling stages in labratovar and field condition at four harvested time. Plants were subjected to four salt treatments including, 0, 60, 120 and 180 mM NaCl for 7 days In the Laboratoy, root and shoot lengths and weights and the activities of superoxide dismutase (SOD: EC 1.15.1.1), catalase (CAT: EC 1.11.1.6), peroxidase (POX: EC 1.11.1.7), ascorbate peroxidase (APX: EC 1.11.1.11) and glutathione reductase (GR: EC 1.6.4.2), and the rate of lipid peroxidation level in terms of malondialdehyde (MDA) were measured. In the field, high, Leaf area index (LAI), nodul number, yield forage and protein percentage were measured. Root and shoot length and weights decreased under salt treatments. However, there were differences between the cultivars and *Rehnani, Esfahani* were the most tolerant and *Pioneer* and *Bami* were the least tolerant cultivars. The activities of SOD, GR, POX and APX were higher in salt tolerant and lower in salt sensitive cultivars. The MDA content was lower in salt tolerance cultivars as compared to sensitive cultivars. These results showed that the SOD, GR, POX, APOX activities and MDA content may be used to select salt tolerance cultivars at the germination and seedling stages. The dry forage was higher in Rehnani cultivar in third harves whereas Bami cultivar was the lowest dry weight. Comparison between lab and field results showed that the good relation was among the activity antioxidant enzymes in seedling stage and salt tolerant in field stage.The results also suggest that SOD, GR, POX and APX may play an important role in salt tolerant mechanisms in alfalfa.

key Words: antioxidative enzymes; dry forage; lipid peroxidation; *Medicago sativa* L.; salt stress

مقدمه

یونجه از گیاهان بومی ایران است و در شرایط آب و هوایی کشور ارقام مختلفی از آن مورد کشت و کار قرار می گیرد. سطح زیر کشت این گیاه با ارزش در کشور حدود ۶۱۶۱۰۶/۲ هکتار، میزان تولید سالیانه آن ۴۷۶۲۳۹۱/۳ تن (علوفه خشک) و متوسط عملکرد علوفه خشک آن نیز ۸۲۸۷کیلوگرم در هکتار می باشد (Bahar et al., 1385). برای نیل به حداکثر عملکرد لازم است گیاهان در شرایط بهینه رشد نمایند. این شرایط در بین گیاهان مختلف متفاوت است و زمانی که یک یا چند مورد از این شرایط خارج از حد مناسب باشند گیاه تحت تنش قرار می گیرد و در نتیجه رشد و عملکرد کاهش می یابد (Hashemi Jazi, 1379). به طور کلی حدود ۱۰ (۱/۴ میلیارد هکتار) از ۱۴ میلیارد هکتار سطح خشکی کره زمین مناسب کشت است، که از این میان حدود یک سوم زمین های تحت آبیاری بطور قابل توجهی شور می باشند (Munns, 2002). در ایران با توجه به اینکه بخش زیادی از مساحت کشور در مناطق خشک و نیمه خشک واقع شده است، مشکل شوری یک معضل بزرگ در کشاورزی می باشد. در ایران حدود ۱۴/۷ درصد از مساحت کل کشور را اراضی شور تشکیل داده اند و نزدیک به ۵۰ درصد از زمین های مورد استفاده در بخش کشاورزی با درجات مختلف با مشکل شوری یا قلیایی بودن روبرو می باشند (Zamanian, 1382).

استقرار گیاه زراعی به برهم کنش بین عوامل محیطی بستر و کیفیت بذر بستگی دارد. حساسیت به تنش شوری عاملی است که بر جوانه زنی بذر تأثیر معکوس دارد (Wilson et al., 2000). بطوری که مراحل اولیه رشد گیاهچه نسبت به تنش شوری حساسیت بیشتری دارد. به همین دلیل تولیدکنندگان محصولات کشاورزی به بذرهایی برخوردار از قدرت جوانه زنی بالا نیاز دارند تا با کشت آنها محصول قابل توجهی به دست آورند (Wilson et al., 2000). در همین راستا انجام آزمایش هایی جهت تعیین اکوتیپ هایی با مقاومت بیشتر به ویژه برای مناطق با خاک شور بسیار حائز اهمیت می باشد و اصولا هر گیاه و هر اکوتیپی که بتواند در این مرحله مقاومت بیشتری نشان دهد خواهد توانست مراحل اولیه رویش را موفق تر پشت سر بگذارد و تراکم کافی در واحد سطح، تولید کند. از این رو در انتخاب گیاهان زراعی باید مقاومت آنها به ویژه در خلال مرحله جوانه زنی و سبز شدن همواره مد نظر باشد.

محققان گزارش کردند که بین ارقام و توده های یونجه در محیط های شور و سال های مختلف تفاوت وجود دارد و یونجه از نظر مقاومت به سمیت و فشار اسمزی حاصل از کلرور سدیم تفاوت هایی نشان می دهد. همچنین آن ها گزارش کردند که حساس ترین

مرحله فنولوژی یونجه نسبت به شوری، مرحله گیاهچه ای و استقرار گیاه (رشد رویشی) است (Kuchaki and Riyazi Hamedani, 1375).

Kuchaki and Riyazi Hamedani (۱۳۷۵) در آزمایشی در مشهد حداکثر محصول خشک را در ارقام یزدی، مائوپا و ال یونیکو و حداکثر تعداد برگ را در ارقام همدانی و رنجر و حداکثر درصد پروتئین را در رقم رنجر به دست آورده اند. Bahar et al. (۱۳۸۵) با مطالعه بر روی پنج رقم یونجه از نظر عملکرد علوفه تر و خشک و درصد برگ و پروتئین در شرایط اهواز، برتری ارقام بمی و دیابلورده را از لحاظ عملکرد علوفه تر و خشک و درصد پروتئین اعلام داشته است.

تنش های مختلف محیطی شامل تنش های زنده و غیر زنده سبب تولید رادیکال های آزاد اکسیژن می شوند از جمله این تنش ها می توان به تنش شوری اشاره کرد (Huang, 2000; Jiang and Zhang, 2001; Reddy et al., 2004). گیاهان برای کاهش اثر مخرب انواع اکسیژن فعال مکانیزم های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیزم ها می توان به سیستم دفاع آنتی اکسیدانی اشاره نمود. این سیستم شامل سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی است. سیستم های غیر آنزیمی شامل آسکوربات، گلوتاتیون، آلفاتوکوفرول، زآزانتین و آنترازانتین و فلاونوئیدها می باشند (Huang, 2000; Shepherd et al., 2002).

آنزیم های دخیل در فرآیند غیرسمی کردن انواع اکسیژن فعال شامل سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیداز و کاتالاز می باشند که در پاکسازی انواع اکسیژن فعال به طور مستقیم نقش دارند (Siosemardeh, 2002; Chang and Kao, 1998).

اختلال تغییرات در میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در شرایط تنش های محیطی از جمله تنش شوری گزارش شده است (Panda & Upadhyay, 2004). تنش شوری باعث ایجاد اختلال در سیستم های آنزیمی خنثی کننده انواع اکسیژن فعال می گرددکه این امر منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی و در نتیجه خسارت به غشاء سلولی و تخریب رنگدانه ها می شود (Chen et al., 2000; Ghanati et al., 2002; Reddy et al., 2004).

در حال حاضر استفاده از گیاهان و ژنوتیپ های مقاوم به شوری یکی از مهمترین روش های مؤثر در بهره برداری و افزایش عملکرد در هکتار در اراضی شور جهان می باشد. از آنجا که تنش شوری با خسارتی که به تولید محصولات کشاورزی وارد می نماید یکی از مهمترین تنش های محیطی است و یونجه نیز یکی از مهمترین گیاهان علوفه ای است که سطح وسیعی از مزارع و مراتع را پوشش داده است، شناسایی مکانیزم های تحمل به تنش شوری با هدف اصلاح و بهبود عملکرد آن در اراضی شور از اهمیت بالایی برخوردار است. لذا این پژوهش به بررسی اثر تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان یونجه در مرحله گیاهچه ای و بررسی عملکرد در مزرعه پرداخته است، تا با شناسایی این اثر، ضمن تعیین چگونگی پاسخ اکوتیپ های یونجه به تنش شوری و پیدا کردن رابطه ای بین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و مقاومت به شوری در مزرعه، امکان شناسایی و استفاده از شاخص های مناسب تحمل به تنش در یونجه در فرآیند غربال اکوتیپ های متحمل، ایجاد گردد.

مواد و روش ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. عوامل شامل چهار سطح شوری صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی مولار که به ترتیب با افزودن ۳/۵، ۷ و ۱۰/۵ گرم نمک کلرید سدیم به هر لیتر آب مقطر تهیه شد و ۹ رقم یونجه شامل ارقام رنجر، بمی، یزدی، نیکشهری، قره یونجه، اصفهانی، پایونیر، رهنانی و همدانی بودند. به تعداد واحدهای آزمایشی، پتری دیش های بزرگ و کاملا استریل شده انتخاب و در کف هر پتری دیش ، کاغذ صافی واتمن شماره ۲ قرار داده شد. سپس تعداد ۵۰ عدد بذر یونجه ضدعفونی شده با محلول وایتکس ۵ درصد (به مدت ۳۰ ثانیه) در داخل هر پتری دیش قرار داده شد. به میزان ۱۰ میلی لیتر از محلول های متعلق به هر سطح شوری به پتری دیش ها اضافه شد. پتری دیش ها در طول اجرای آزمایش (۷ روز) در داخل ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. صفات طول و وزن خشک ساقه چه و ریشه چه اندازه گیری شد. برای اندازه گیری وزن خشک ساقه چه و ریشه چه، پس از شمارش نهایی تعداد بذور جوانه زده از هر پتری دیش ۱۰ نمونه گیاهچه به طور تصادفی انتخاب و با آب مقطر شستشو و ریشه چه و ساقه چه آن ها از بقایای بذر جدا و به مدت ۴۸ ساعت در آون در حرارت ۸۰ درجه سانتی گراد خشک شد. سپس نمونه ها توسط ترازویی دقیق وزن شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان برگ

کلیه آنزیم های آنتی اکسیدانی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان اندازه گیری شد. جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و سوپر اکسید دیسموتاز ابتدا از برگ های گیاهان مورد آزمایش نمونه برداری شد. نمونه ها بلافاصله پس از برداشت در فریزر در دمای ۸۰- نگه داری شدند سپس نمونه ها در ازت مایع منجمد و سپس در هاون چینی پودر شدند. میزان ۰/۱ گرم از نمونه پودر شده به کمک یک میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار با pH = ۷/۸ حاوی ۰/۱ EDTA میلی مولار و ۱PVP (پلی وینیل پیرولیدون) بر روی یخ هموژنایز گردید. سپس عصاره حاصل از هر نمونه در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه با استفاده از سرعت ۱۴۰۰ دور در ساعت سانتریفیوژ شد. محلول بالایی ته نشین نشده حاصل در ویال های استریل جمع آوری گردید و به عنوان عصاره های آنزیمی جهت اندازه گیری فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز استفاده شد. تمامی مراحل استخراج جهت اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم بر روی یخ انجام شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم کاتالاز در ۳ میلی لیتر محلول واکنش به صورت ۵۰ میلی مولار بافر فسفات سدیمی با pH = ۷ ، ۱۰ میلی مولار آب اکسیژنه و ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بر اساس روش Sairam و همکاران (2002) اندازه گیری شد. پس از اضافه کردن آب اکسیژنه فعالیت CAT موجود در عصاره آنزیمی، در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Beck-man Du 530) اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیم طبق رابطه زیر تعیین گردید:

واحد فعالیت آنزیم

$\mu mol / min / ml = unit\ ml^{-1}$

$$Enzyme\ activity\ (EA) = \Delta OD \times 1000 \times A^{-1} / EC \times B / C^{-1}$$

در روابط فوق:

A = مقدار عصاره آنزیمی موجود در محلول واکنش، B = مقدار بافر استخراج به کار رفته، C = وزن نمونه تازه، ΔOD = اختلاف جذب طول موج خاص هر آنزیم در طول مدت یک دقیقه، EC = ضریب خاموشی آنزیم

اندازه گیری فعالیت پراکسیداز (POX)

روش اندازه گیری این آنزیم همانند آنزیم کاتالاز بود.

با این تفاوت که بافر استخراج این آنزیم در داخل کوئت های شاهد و نمونه علاوه بر ۴/۵۱ میکرولیتر H_2O_2 (۳۰٪) حاوی ۳/۳۵ میکرولیتر گویاکول (GUACOL) در هر کوئت بود. طول موج جذبی طیف سنج ۴۷۰ نانومتر تنظیم شد. مدت زمان لازم برای ثبت فعل و انفعالات یا تکمیل تاثیر آنزیم های POX داخل کوئت نمونه ۲ دقیقه بود (Sairam et al., 2002).

اندازه گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت این آنزیم بر اساس روش Sairam و همکاران (2002) در یک میلی لیتر بافر واکنش به صورت ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم با pH =۷ ، ۰/۵ میلی مولار آسکوربیک اسید، ۰/۱ میلی مولار EDTA، ۲۵/۱ میلی مولار آب اکسیژنه و ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اندازه گیری شد. کاهش جذب آسکوربات پراکسیداز در اثر فعالیت APX با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه اندازه گیری شد.

اندازه گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

جهت تعیین مقدار SOD از روش Sairam و همکاران (2002) استفاده شد. برای تهیه ترکیب واکنش از ۱۳ میلی مول متیونین، ۲۵ میکرومول نیتروبلوتترازولیوم (NBT = Nitro Blue Tetrazolium)، ۶ میکرومول محلول ۰/۵ مولار EDTA، ۱/۵ میلی لیتر از محلول ۱ مولار فسفات بافر (pH = ۸/۷)، ۶۰ میکرومول ریبوفلاوین ۱ میلی مولار و ۵۰ میلی مول سدیم بیکربنات استفاده شد. سپس ۲/۹ میلی لیتر از مخلوط حاصل را داخل تیوب استریل ریخته، بلافاصله پس از افزودن ۲ میکرومول ریبوفلاوین و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی، به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور لامپ فلورسانس ۶×۱۵ وات قرار داده شد. جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم SOD مخلوط حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر طیف سنجی گردید.

اندازه گیری فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز (GR)

جهت تعیین مقدار گلوتاتیون ردوکتاز از روش Sairam و همکاران (2002) استفاده شد. برای طیف سنجی ترکیب واکنش، ۱ میلی لیتر فسفات پتاسیم بافر ۰/۲ مولار (pH = ۷/۵) را که حاوی ۱ میلی مول EDTA، ۰/۵ میلی لیتر DTNB ۳ میلی مولار حل شده در ۰/۰۱ مول فسفات بافر pH = ۷/۵، با ۰/۱ میلی لیتر از گلوتاتیون اکسید شده ۲ میلی مولار، در طول موج ۴۱۲ نانومتر و در مدت ۱۰ دقیقه، هر ۱۵ ثانیه یکبار، مورد طیف سنجی قرار گرفت.

پراکسیداسیون چربی (مقدار مالون دآلدهید)

به منظور بررسی اثرات مخرب گونه های فعال اکسیژن بر سلامت غشاء سلول های گیاهی از شاخص پراکسیداسیون چربی استفاده شد. معمولا در اثر اکسیداسیون غشاء سلولی توسط رادیکال های آزاد تولید شده در شرایط تنش ماده ای به نام مالون دآلدهید تولید می شود. لذا اندازه گیری این ماده در بافت گیاهی می تواند به عنوان شاخصی از تاثیر کنش های محیطی از جمله تنش شوری بر گیاه باشد. به منظور اندازه گیری میزان مالون دآلدئید در گیاه ابتدا مقدار ۰/۱ گرم برگ تازه به طور جداگانه در ۲/۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) سائیده و مخلوط حاصله را به مدت ۵ دقیقه با دور g ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. میزان یک میلی لیتر از محلول رویی به میزان ۲/۲۵ میلی لیتر محلول TBA – TCA اضافه و مدت ۳۰ دقیقه روی حمام بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از این زمان به منظور متوقف کردن واکنش، نمونه ها بلافاصله در یخ سرد قرار داده شد. سپس نمونه ها مجددا در دورg ۳۰۰۰ سانتریفیوژ گردیدند و محلول سانتریفیوژ شده به لوله آزمایش منتقل گردیده و مقدار جذب نور در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. تفاوت جذب در این دو طول موج غلظت مالون دآلدهید را در محلول نشان خواهد داد. غلظت مالون دآلدهید در هر طول موج طبق رابطه زیر محاسبه و بر حسب نانومول بر گرم وزن تر برگ بیان خواهد شد (Madhava and Sresty, 2000):

$A = \acute{\varepsilon} bc$

که در آن:

A = مقدار جذب در یک طول موج مشخص، $\acute{\varepsilon}$ = ضریب خاموشی، $mM^{-1}\ cm^{-1}$، c = غلظت، b = عرض کوئت

مرحله مزرعه ای

آزمایش مزرعه ای در سال ۱۳۹۰ به منظور بررسی اثر شوری بر عملکرد ماده خشک، تعداد گره در ساقه، شاخص سطح برگ، ارتفاع و درصد پروتئین ۹ رقم یونجه، در مزرعه آزمایشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان به اجرا در آمد. محل آزمایش در ۴۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان در منطقه لورک شهرستان نجف آباد در عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۳ دقیقه شرقی واقع شده بود. ارتفاع مزرعه از سطح دریا ۱۶۳۰ متر و بر اساس طبقه بندی کوپن دارای اقلیم نیمه خشک خنک با تابستان های گرم و خشک می باشد و متوسط درجه حرارت سالیانه در این منطقه ۱۴/۵ درجه سانتی گراد و متوسط بارندگی سالیانه ۱۴۰ میلی متر می باشد. خاک محل آزمایش از سری خاک خمینی شهر، عموما از رده اریدی سول با جرم مخصوص ظاهری ۱/۳ گرم بر سانتی متر مکعب بود. ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی خاک به ترتیب ۲۵ و ۱۰ درصد وزنی بود (Lakziyan, 1378).

عملیات تهیه زمین شامل شخم عمیق، دو بار زدن دیسک، عملیات ماله کشی و تسطیح و کرت بندی بود. آزمایش به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار و ۴ تیمار شوری (شاهد، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی مولار کلرید سدیم) بر روی ۹ رقم یونجه (همدانی، بمی، یزدی، رهنانی، قره یونجه، اصفهانی، رنجر، پایونیر و نیکشهری) به اجرا درآمد. کرت اصلی شامل سطوح مختلف شوری و کرت فرعی ارقام یونجه بود. شیوه کاشت مسطح و به صورت خطی بود. طول هر کرت اصلی ۲۰ متر بود که تعداد ۹ کرت فرعی در داخل آن قرار گرفت. هر کرت فرعی دارای ۱۰ خط کاشت و فاصله دو ردیف کاشت از همدیگر برابر ۲۰ سانتی متر بود. طول هر کرت فرعی ۲ متر بود. جهت دارا بودن پوشش یکنواخت در هر کرت یک متر ابتدای کرت بدون کشت باقی ماند. فاصله کاشت بذور ۳ سانتی متر و عمق کاشت بذر یک سانتی متر بود. اولین آبیاری کرتی بلافاصله بعد از کاشت و آبیاری های بعدی با فاصله ۹-۷ روز بسته به شرایط آب و هوایی انجام شد.

نحوه اعمال تنش شوری در مزرعه

در مطالعه حاضر، تنش شوری با استفاده از افزودن مقادیر معین نمک به آب ایجاد گردید. بدین صورت که اعمال تنش کرت شاهد بوسیله آب لورک با EC = ۱/۷ انجام شد. برای اعمال تنش در سطوح ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی مولار، یک مخزن با ظرفیت حدود ۹۰۰۰ لیتر در مزرعه تعبیه شد. در این مخزن EC آب آبیاری با اضافه کردن نمک به سطح شوری مورد نظر رسید. همچنین در هر دور آبیاری به منظور جلوگیری از تجمع بیش از حد نمک در عمق توسعه ریشه،

ضریب آبشویی برای خاک مورد مطالعه محاسبه و حدود ۲۵ درصد آب اضافی با EC آب مزرعه وارد کرت گردید. از آنجا که مساحت هر کرت ۴۰ مترمربع بود، حجم آب آبیاری برای هر کرت محاسبه و با استفاده از کنتوری که بر سر هر کرت نصب شده بود، آب مورد نیاز وارد کرت شد (Allen et al., 2000).

$$V = d_g \times A$$

$$d_g = \rho_b (\theta_{fc} - \theta_2) D/E$$

d_g = عمق ناخالص آبیاری (سانتیمتر)، ρ_b = جرم مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتیمتر مکعب)، θ_{fc} = رطوبت جرمی خاک در حد ظرفیت مزرعه، θ_2 = رطوبت جرمی خاک در روز قبل از آبیاری، D = عمق توسعه ریشه (سانتیمتر)، E = راندمان آبیاری (۸۰ درصد) ، V = حجم آب آبیاری، A = مساحت کرت (۴۰ مترمربع)

در این رابطه عمق توسعه ریشه در طول دوره رشد متغیر در نظر گرفته شد که در حدود ۴۵ تا ۶۰ سانتیمتر بود.

در طول آزمایش در طی ۴ چین برداشت شده، صفات عملکرد ماده خشک، تعداد گره در ساقه، شاخص سطح برگ (سطح برگ گیاهان با استفاده از اسکنر کامپیوتری با وضوح ۴۰۰ dpi و نرم افزار دلتا تی اسکن در همه چین ها اندازه گیری شد)، ارتفاع و درصد پروتئین ارقام یونجه به روش کجلدال اندازه گیری شد.

محاسبات آماری

داده های حاصل از اندازه گیری های مختلف با استفاده از نرم افزار رایانه ای SAS مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد در صورت معنی دار بودن اثر عوامل آزمایشی انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح شوری به طور معنی داری پارامترهای رشد ارقام یونجه را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۱). اثر رقم بر طول ریشه چه، ساقه چه، وزن خشک ریشه چه و ساقه چه معنی دار بود. همچنین اثر شوری نیز بر طول ریشه چه، ساقه چه، وزن خشک ریشه چه و ساقه چه معنی دار بود (جدول ۱).

با افزایش سطح شوری، صفات طول ریشه چه، ساقه چه، وزن خشک ریشه چه و ساقه چه روند کاهشی داشتند(جدول ۲). طول ریشه چه در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار نسبت به شاهد حدود ۳۳ درصد کاهش یافت. طول ساقه چه نیز در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار نسبت به شاهد حدود ۲۵ درصد کاهش نشان داد(جدول ۲). ارقام رهنانی و اصفهانی بیشترین طول ریشه چه و ساقه چه و وزن خشک ریشه چه و ساقه چه را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).کمترین طول ریشه چه و ساقه چه و وزن خشک ریشه چه و ساقه چه نیز مربوط به ارقام پایونیر و بمی بود (جدول ۲).

بررسی اثر متقابل شوری و رقم در صفت طول ریشه چه نشان داد که رقم اصفهانی در سطح شوری شاهد بیشترین و رقم پایونیر در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار کمترین طول ریشه چه را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). رقم اصفهانی در سطح شوری شاهد بیشترین (۱۵/۱میلی متر) و رقم پایونیر در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار کمترین (۳ میلی متر) طول ساقه چه را دارا بودند (جدول ۴). وزن خشک ریشه چه در رقم رهنانی و در سطح شوری شاهد بیشترین (۰/۰۱ گرم) میزان را داشت (جدول ۵). همچنین رقم بمی در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار کمترین (۰/۰۰۰۳۶ گرم) وزن خشک ریشه چه را به خود اختصاص داد (جدول ۵).

بررسی اثر متقابل شوری و رقم در صفت وزن خشک ساقه چه نشان داد که رقم رهنانی در سطح شوری شاهد بیشترین و رقم پایونیر در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار کمترین وزن خشک ساقه چه را به خود اختصاص دادند (جدول ۶). به طور کلی تحمل به تنش در تمام مراحل زندگی گیاه اهمیت دارد و بدیهی است که اولین مرحله، جوانه زنی بذر است. از آنجا که عملکرد از نظر کمی و کیفی به میزان و درصد سبز شدن و همچنین یکنواختی آن وابسته می باشد، بنابراین مرحله جوانه زنی گیاه، مرحله حساس و مهمی است که می تواند با استقرار مطلوب گیاهچه ها، در فرآیند تولید نقش مهمی ایفا نماید (Heidari and Mesri, 2008). تنش شوری در مرحله جوانه زنی صفات متعددی (از جمله درصد و سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه، همچنین وزن تر و وزن خشک ریشه چه و ساقه چه و نسبت ریشه به تاج را تحت تأثیر قرار می دهد.

نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که پراکسیداسیون لیپیدها و آنزیم های آنتی اکسیدان درسطوح شوری و ارقام یونجه و همچنین اثر متقابل تیمارها بر پراکسیداسیون لیپیدها و آنزیم های آنتی اکسیدان شامل سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز نیز معنی دار بود (جدول ۷). اثر رقم بر پراکسیداسیون لیپیدها و آنزیم های آنتی اکسیدان درسطوح شوری و ارقام یونجه و همچنین اثر متقابل آن ها معنی دار بود. همچنین اثر شوری بر پراکسیداسیون لیپیدها و آنزیم های آنتی اکسیدان درسطوح شوری و ارقام یونجه و همچنین اثر متقابل آن ها معنی دار بود (جدول ۷).

به طور کلی با افزایش سطح شوری از شاهد تا ۱۸۰ میلی مولار، سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و مالون دآلدئید روند افزایشی داشتند. به طوریکه بیشترین میزان سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و مالون دآلدئید در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم بدست آمد (جدول ۸). محققین مختلف از جمله Heidari and Mesri (۲۰۰۸) از افزایش میزان پرولین در گندم و Sultana et al. (۱۹۹۹) در برنج تحت تنش شوری خبر می دهند. در بین ارقام نیز رقم رنجر بیشترین و رقم بمی کمترین میزان سوپراکسددیسموتاز را به خود اختصاص داد. رقم همدانی بیشترین و رقم یزدی کمترین میزان پراکسیداز را دارا بودند. همچنین رقم قره یونجه بیشترین و رقم بمی کمترین میزان کاتالاز را داشت. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در واکنش به تنش شوری توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (McDonald, 1999; Baily, 2004). این آنزیم طی واکنش آنزیمی با زدودن انواع فعال اکسیژن و جلوگیری از تخریب دیواره سلولی به بقاء گیاه کمک می نماید (Jiang and Zhang, 2001). از آن جا که برخی محققان معتقدند که سنتز پروتئین ها در اثر تنش های شدید شوری کاهش می یابد، فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در تنش های شدید شوری ممکن است کاهش یابد (Khanna-Chopra and Selote, 2007). رقم اصفهانی نیز دارای بیشترین و ارقام پایونیر و بمی کمترین میزان آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز بودند. در عین حال ارقام رهنانی و اصفهانی کمترین میزان و رقم بمی بیشترین میزان مالون دآلدئید را به خود اختصاص دادند(جدول ۸). آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون رداکتاز باعث حذف و غیر فعال شدن گونه های فعال اکسیژن می شوند (McDonald, 1999; Baily, 2004).

آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز باعث حذف و کاهش خسارت پراکسید هیدروژن می شوند (McDonald, 1999). آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز نیز یکی از آنزیم های مسیر گلوتاتیون – آسکوربات است که با مصرف NADPH به عنوان دهنده الکترون باعث احیاء گلوتاتیون می شود (Baily, 2004). چرخه گلوتاتیون آسکوربات دارای یک نقش مهم در ایجاد سیستم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو می باشد و افزایش فعالیت آنزیم های آن در شرایط تنش سبب حداقل شدن اثرات تنش اکسیداتیو می شود (Khanna-Chopra and Selote, 2007) و گلوتاتیون ردوکتاز نقشی کلیدی در احیاء پراکسید هیدروژن به آب از طریق مسیر هالیول-آسادا ایفا می کنند (Baily, 2004). نتایج بسیاری از تحقیقات نیز نشان می دهد که فعالیت این آنزیم ها در برگ های ارقام حساس و متحمل به شوری بسیاری از گونه های گیاهی افزایش می یابد (Demiral and Turkan, 2005; Bor et al., 2003). اگر چه این افزایش فعالیت آنزیمی در ارقام متحمل به شوری بیشتر از ارقام حساس گزارش شده است (Moradi et al., 2007; Shalata et al., 2001).

اثر متقابل شوری و رقم نشان داد که رقم رهنانی در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بیشترین و رقم بمی در سطح شوری شاهد کمترین میزان سوپراکسیددیسموتاز را به خود اختصاص دادند (جدول ۹). مشابه نتایج این آزمایش Tohidi-Moghadam et al. (۲۰۰۹) گزارش کرده اند که در طی بروز تنش خشکی نیز بر میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزوده می شود. Apple and Hirt (۲۰۰۴) اعلام کرده اند که بسته به گونه گیاهی و نوع تنش، آنزیم های آنتی اکسیدان خاصی جهت تحمل فعال می شوند. برای مثال Heidari and Mesri (۲۰۰۸) گزارش کرده است که در ارقام مختلف گندم تحت تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزوده می شود.

بیشترین میزان پراکسیداز در رقم رنجر و سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بدست آمد. همچنین کمترین میزان پراکسیداز مربوط به رقم یزدی در سطح شوری شاهد بود (جدول ۱۰). آنزیم پراکسیداز با استفاده از مواد فنولیک به عنوان دهنده الکترون باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می شود (Apple and Hirt, 2004). از آن جایی که تجمع پراکسید هیدروژن ناشی از واکنش سوپراکسید دیسموتاز نیاز به فعالیت ترکیبی دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به منظور حفاظت سلول های گیاهی خواهد داشت، لذا این دو آنزیم نقش مهمی را در حذف پراکسید هیدروژن ایفاء می نمایند. شواهد زیادی مبنی بر افزایش و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش وجود دارد و اگرچه افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز توسط تنش شوری در چغندرقند (Bor et al., 2003) و برنج (Demiral and Turkan, 2005) گزارش شده است، ولی شواهدی نیز مبنی بر کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش شوری وجود دارد (Demiral and Turkan, 2005). تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز در سایر تنش ها نیز گزارش داده شده است. از فعالیت بالاتر این آنزیم در ارقام متحمل به شوری در شرایط تنش چنین استنباط می شود که ارقام متحمل دارای ظرفیت بالاتری برای تجزیه پراکسید هیدروژن تولیدی ناشی از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز می باشند. به نظر می رسد کاهش شدید محتوای پروتئین های محلول برگ در اثر شوری سبب کاهش پروتئین های تیلاکوئید و سیکل کالوین بخصوص آنزیم روبیسکو و برخی از آنزیم های آنتی اکسیدان می شود (Bor et al., 2003).

بررسی اثر متقابل رقم و شوری نشان داد که بیشترین میزان آسکوربات پراکسیداز در رقم اصفهانی و سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بدست آمد. همچنین رقم بمی در سطح شوری شاهد کمترین میزان آسکوربات پراکسیداز را دارا بود (جدول ۱۱). افزایش فعالیت این آنزیم در ارقام متحمل به شوری (Moradi et al., 2007; Shala-ta et al., 2001) و کاهش (Moradi et al., 2007; Shalata et al., 2001)، یا عدم تغییر (Demiral and Turkan, 2005) فعالیت آن در ارقام حساس نیز گزارش شده است. در آزمایشی Alvesda Costa et al. (۲۰۰۵) اعلام کرده اند که در اثر تنش شوری بر میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ارقام مختلف سورگوم افزوده و از فعالیت آنزیم کاتالاز کاسته می شود. بر اساس تحقیقات Demiral and Tur-kan, (۲۰۰۵)، شوری سبب تبدیل O_2^- به H_2O_2 در درون سلول شده، این امر مانع فعالیت چرخه کالوین و در نهایت فرآیند قندسازی در گیاهان می شود. لذا بالا رفتن فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان همانند آسکوربات پراکسیداز می تواند از اثرات سوء تشکیل H_2O_2 بر فرآیند قندسازی در کلروپلاست جلوگیری کند. شواهدی نیز مبنی بر تولید مالون دآلدئید کمتر در ارقام مقاوم در شرایط تنش شوری همراه با فعالیت بالاتر آنزیم آسکوربات پراکسیداز وجود دارد (Demiral and Turkan, 2005).

میزان گلوتاتیون ردوکتاز در رقم اصفهانی و در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بیشترین و در رقم پایونیر و در سطح شوری شاهد کمترین میزان را به خود اختصاص داد (جدول ۱۲). با توجه به افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی و شوری و نقش آن در احیاء گلوتاتیون، این آنزیم به احتمال زیاد یکی از آنزیم های مهم در گیاه است که افزایش فعالیت آن سبب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو خواهد شد. گزارش شده است که افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز مرتبط با تحمل شوری می باشد (Bor et al., 2003). به هر حال در این تحقیق به نظر می رسد کاهش فعالیت این آنزیم در ارقام حساس به شوری به علت افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن و غیرفعال شدن آنزیم ها بر اثر واکنش با آن ها باشد این مورد توسط سایر محققان نیز مورد تاکید قرار گرفته است (Demiral and Turkan, 2005). با این تفاسیر از آن جایی که کاهش فعالیت این آنزیم منجر به افزایش حساسیت به شوری می گردد، لذا کاهش بیشتر فعالیت این آنزیم در ارقام حساس ممکن است سبب حساسیت بیشتر این ارقام در برابر تنش گردد. چرخه گلوتاتیون آسکوربات نقش مهمی در ایجاد سیستم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو دارد و افزایش فعالیت آنزیم های آن باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو می شود و بر عکس کاهش فعالیت آنزیم های آن باعث افزایش خسارت های تنش اکسیداتیو می شود (Khanna-Chopra and Selote, 2007). کاهش فعالیت این آنزیم ها در شرایط تنش به علت افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن و غیرفعال شدن آنزیم ها بر اثر واکنش با آن ها است (Demiral and Turkan, 2005). نتایج حاصل از فعالیت این آنزیم ها نشان داد که حفاظت در برابر خسارت اکسیداتیو توسط سطوح بالایی از آنتی اکسیدان ها و نیز وجود یک چرخه فعال آسکوربات گلوتاتیون ممکن است نقش مهمی در افزایش تحمل شوری در یونجه داشته باشد.

بررسی اثر متقابل رقم و شوری نشان داد که بیشترین میزان مالون دآلدئید در رقم بمی و در سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بدست آمد. همچنین این نتایج نشانگر آن است که کمترین میزان مالون دآلدئید در رقم رهنانی و سطح شوری شاهد بدست آمد (جدول

۱۳). مالون د آلدئید در اثر پراکسیداسیون غشای سلولی تولید می شود (Sairam et al., 2002). تغییر در پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان یک شاخص مهم جهت تعیین میزان خسارت اکسیداتیو در موجودات زنده محسوب می شود و منجر به کاهش یکپارچگی غشاء در موجودات زنده تحت شرایط تنش می گردد (Borsani et al., 2001; Del Rio et al., 2006). به نظر می رسد دلیل اصلی خسارت شدید به غشای سلولی تولید رادیکال های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل باشد که در نهایت منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی می گردد (Del Rio et al., 2006). نتایجی نیز مبنی بر تجمع مالون دآلدئید در گیاه در شرایط تنش شوری وجود دارد و مقادیر بیشتری از آن در ارقام حساس در مقایسه با ارقام متحمل به شوری مشاهده شده است (Sairam et al., 2002).

به طور کلی می توان گفت که حذف و سمیت زدایی گونه های فعال اکسیژن یک بخش مهم تحمل شوری می باشد. بررسی های انجام شده نیز فعالیت بالاتر آنتی اکسیدان ها را در ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس نشان می دهد و سهم مکانیزم های حذف کننده آنزیمی و غیرآنزیمی اقسام فعال اکسیژن در ارقام حساس و متحمل به شوری متفاوت می باشد.

نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که اثرات شوری، رقم و چین بر صفات ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین یونجه معنی دار بود (جدول ۱۴). همچنین اثرات متقابل رقم و شوری، شوری و چین، در کلیه این صفات معنی دار بود. در مورد اثر متقابل رقم و چین نیز تمامی صفات به جز ارتفاع معنی دار بودند.

در بین ارقام، رقم رهنانی بیشترین ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین را به خود اختصاص داد (جدول ۱۵). همچنین رقم بمی کمترین ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین را دارا بود. با افزایش سطوح شوری ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین یونجه روند کاهشی نشان داد. به طوریکه بیشترین و کمترین میزان ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین به ترتیب در سطح شاهد و ۱۸۰ میلی مولار بدست آمد. چین اول بیشترین و چین چهارم کمترین میزان ارتفاع و شاخص سطح برگ را دارا بودند (جدول ۱۵). بیشترین میزان تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین در چین سوم و کمترین مقادیر مربوط به چین اول بود (جدول ۱۵).

ارقام رهنانی و بمی در تمام سطوح شوری به ترتیب بیشترین و کمترین میزان ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین را به خود اختصاص دادند (جدول ۱۶). بیشترین میزان ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین مربوط به رقم رهنانی و سطح شوری شاهد بود. همچنین کمترین میزان ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین مربوط به رقم بمی و سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بود (جدول ۱۶).

به طور کلی در چین های مختلف بیشترین و کمترین شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین به ترتیب در ارقام رهنانی و بمی بدست آمد (جدول ۱۷). بیشترین میزان شاخص سطح برگ در رقم رهنانی و به ترتیب در چین های اول، سوم، دوم و چهارم بدست آمد. همچنین بیشترین و کمترین تعداد گره، میزان وزن خشک و درصد پروتئین در ارقام رهنانی و بمی به ترتیب در چین های سوم، دوم، چهارم و اول بدست آمد (جدول ۱۷).

بیشترین میزان ارتفاع و شاخص سطح برگ در چین اول و سطح شوری شاهد بدست آمد (جدول ۱۸). همچنین کمترین میزان ارتفاع و شاخص سطح برگ نیز در چین چهارم و سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بدست آمد. بیشترین تعداد گره، وزن خشک و درصد پروتئین مربوط به چین سوم و سطح شوری شاهد بود. همچنین کمترین تعداد گره در چین های اول و چهارم و سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بدست آمد. کمترین میزان وزن خشک و درصد پروتئین در چین اول و سطح شوری ۱۸۰ میلی مولار بدست آمد(جدول ۱۸).

محققان طی تحقیقی تعدادی ارقام و توده یونجه را در مرحله رشد رویشی مورد بررسی قرار داد ه اند و اعلام نمود ه اند که یونجه رهنانی مقاوم ترین رقم نسبت به شوری است این در حالی است که رقم رهنانی در آزمایشات گلخانه ای نسبت به بقیه ارقام یونجه برتری داشته ولی در محیط های طبیعی شور به علت اثرات متقابل شرایط اکولوژیکی، زراعی، خاکی و گیاهی بر روی هم، گیاه نتوانسته پتانسیل واقعی تولید خود را نشان دهد (Kuchaki and Riyazi Hamedani, 1375). کاهش ارتفاع یونجه در اثر شوری توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است (Bahar et al., 2005). جلوگیری از ورود یون ها یکی ار سازوکارهای اجتناب از شوری است. Bahar et al (۲۰۰۵) تحمل به شوری یونجه را به توانایی آنها در جلوگیری از ورود یونهای کلر و سدیم به قسمت هوایی گیاه نسبت داده اند و گزارش نموده اند که گیاهان متحمل به شوری یونجه نسبت به گیاهان حساس تر مقدار کمتری کلر و سدیم در قسمت هوایی خود داشته اند. این سازوکار در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است.

رشد کم ریشه علاوه بر اینکه ممکن است در انتقال آب و مواد غذایی اثر بگذارد، از طریق تاثیر بر توازن هورمون ها، رشد قسمت هوایی را نیز تحت تاثیر قرار می دهد. همچنین به علت اینکه ریشه منبع تخلیه مواد فتوسنتزی است، رشد کم آن به منزله عدم توانایی این اندام برای مصرف مواد فتوسنتزی بوده که منجر به ایجاد سیستم بازدارنده پس خورد می شود وفتوسنتز کاهش می یابد، در نتیجه رشد قسمت هوایی نیزکاهش خواهد داشت (Bahar et al., 2005).

Hashemi Jazi (۱۳۷۹) تاثیر پتانسیل های شوری را بر روی ویژگی های رویشی ارقام رنجر، رهنانی، همدانی، مائوپا، بمی و یزدی بررسی و اعلام کرده است که ماده خشک بخش هوایی، ارتفاع بوته ها و سطح برگ با افزایش پتانسیل شوری کاهش قابل ملاحظه ای می یابد. او ارقام رنجر و رهنانی را در کلیه صفات برتر از سایر ارقام معرفی نموده است. Rezaiyan and Ghamari Zare (۱۳۷۹) نیز تاثیر شوری را بر رشد رویشی قره یونجه و لاین ۲۱۲۹ استرالیایی بررسی و اعلام کرده اند که عملکرد علوفه خشک لاین ۲۱۲۹ استرالیا در شوری پایین تر و عملکرد علوفه خشک قره یونجه در شوری بالاتر بیشتر می باشد.

Smith et al (۱۹۹۵) تاثیرات شرایط محیطی را بر عملکرد کیفی علوفه یونجه نشان داده اند. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردیده است که چین اول نسبت به سایر چین ها به علت وجود دمای مساعد و شرایط اکولوژیکی مناسب، از نظر عملکرد کمی و کیفی نسبت به دو چین دیگر برتری دارد و در صورت مبارزه با علف های هرز و آفات می توان علوفه مناسبی از این چین برداشت و ذخیره نمود. همچنین این محققان (Smith et al., 1995) معتقدند که در شرایط آب و هوایی گرم، عملکرد علوفه خشک و پروتئین افزایش می یابد. در این آزمایش هم بیشترین میزان علوفه خشک و پروتئین در چین سوم که در شهریور برداشت شده بود بدست آمد.

Ashraf et al (۱۹۹۷) در آزمایشی جهت بررسی تحمل به شوری چهار گیاه علوفه ای از جمله یونجه مشاهده کرد ه اند که طول ساقه ها سریعا با افزایش میزان کلرید سدیم در محیط کشت کاهش می یابد، در نتیجه میزان عملکرد اندام های هوایی نیز کاهش نشان می دهد. Zekri and Parsons (۱۹۹۰) بیان کرده اند که کاهش رشد در اثر شوری به دلیل کاهش سطح فتوسنتز کننده یا میزان فتوسنتز در واحد سطح می باشد، در این ارتباط Munns (۲۰۰۲) معتقد است که در اثر شوری سطح برگ یونجه کاهش می یابد و در نتیجه میزان فتوسنتز در واحد برگ افت پیدا می کند به بیان دیگر کاهش میزان مواد فتوسنتزی به جای آن که علت کاهش رشد باشد به عنوان معلول آن شناخته شده است. Fajeria (۱۳۷۴) نیز بیان کرده است که در گیاهانی مانند یونجه با افزایش شوری آثار تغییر در ساختمان برگ ها ظاهر شده و کوتیکول و برگ ها ضخیم تر شده و رنگ تیره به خود می گیرند. Hoffman et al (۱۹۷۵) نیز اعلام کرده اند که شوری باعث کاهش رشد اندام های هوایی در یونجه می شود، بنابراین نسبت برگ به ساقه را در یونجه افزایش می دهد و در نتیجه در کیفیت علوفه اثر می گذارد. آن ها با تجزیه رگرسیونی بیش از ۳۰ صفت مورفولوژیک و فیزیولوژیک نشان داده اند که بیش از ۹۵ درصد تغییرات عملکرد در کلون های یونجه مربوط به چهار مولفه سطح برگ، نسبت برگ به ساقه، دمبرگ و وزن برگ در گیاه است. این نتایج اهمیت صفات مورفولوژیک را در تعیین عملکرد یونجه با سطح برگ همبستگی مثبت دارد زیرا ۳۰ تا ۶۰ درصد علوفه را برگ ها تشکیل می دهند. به طور کلی اثرات تنش شوری بر روی کاهش رشد گیاه و عملکرد آن پیچیده است. این کاهش می تواند در اثر تغییر در تخصیص موادی نظیر فتواسمیلات به ریشه ها، منجر به کاهش رشد بخش های هوایی به ویژه رشد برگ ها و یا به دلیل بستن جزئی و کلی روزنه ها یا به علت اثر مستقیم نمک بر روی سیستم فتوسنتزی و یا تاثیر بر توازن یونی باشد (Brugnoli and Bjorkman, 1992).

نتیجه گیری کلی و پیشنهادات

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق چنین استنباط می شود که ارقام رهنانی و اصفهانی با میزان کمتر پراکسیداسیون چربی ها (به صورت محتوی پایین تری از مالون دآلدئید) همراه با فعالیت بالاتر آنتی اکسیدان ها در شرایط شوری، دارای ظرفیت بالاتری جهت حذف گونه های فعال اکسیژن تولیدی و ثبات عملکرد بهتری در مقایسه با ارقام حساس می باشند. همچنین با توجه به اینکه افزایش فعالیت آنتی اکسیدان ها بیان کننده افزایش حذف گونه های فعال اکسیژن می باشد، لذا اغلب از این ویژگی به عنوان یک شاخص قابل اعتماد جهت بیان افزایش تحمل شوری استفاده می شود. بررسی نتایج مزرعه ای نشان داد که در سطوح مختلف شوری و چین های برداشت شده، رقم رهنانی در چین سوم بیشترین میزان علوفه خشک را تولید کرده است در حالیکه رقم بمی کمترین میزان علوفه خشک را به خود اختصاص داده است. در ادامه مقایسه نتایج آزمایشگاهی و مزرعه ای نشان داد که بین سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده در مرحله گیاهچه ای و مقاومت به شوری در مزرعه ارتباط و همبستگی قابل قبولی وجود دارد. چنانکه ارقام رهنانی و اصفهانی که بیشترین سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را در گیاهچه یونجه دارا بودند، بیشترین مقاومت به شوری را نیز طی چین های مختلف در مزرعه نشان دادند.

در انتها پیشنهاد می شود که جهت شناخت و بررسی کامل تر سیستم آنتی اکسیدانی گیاه یونجه و نحوه عمل آن در شرایط تنش شوری و یافتن ارتباط قوی تری بین آنزیم های آنتی اکسیدانی و مقاومت به شوری در مزرعه، آیزوزایم های مختلف آنزیم های آنتی اکسیدان و تغییرات فعالیت هر یک از آن ها و نیز محتوی سایر متابولیت های آنتی اکسیدان مانند آسکوربیک اسید و گلوتاتیون مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین پیشنهاد می شود آزمایش مزرعه ای طی سال های بیشتری مورد بررسی قرار گیرد.

جدول ۱. تجزیه واریانس پارامترهای رشد در ۴ سطح شوری و ۹ رقم یونجه

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه‌چه (cm)	طول ساقه‌چه (cm)	وزن خشک ریشه‌چه (g)	وزن خشک ساقه‌چه (g)
تکرار	۲	۳/۷۷^{ns}	۸/۴۴^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۸^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۷^{ns}
رقم	۸	۷۵/۲***	۸۰/۸۴***	۰/۰۰۰۰۷۷***	۰/۰۲۱۸۵***
شوری	۳	۲۳/۷**	۲۴/۵۸*	۰/۰۰۰۰۲۲***	۰/۰۰۴۸۹***
رقم*شوری	۲۴	۹/۱۱*	۱۵/۰۹*	۰/۰۰۰۰۰۱*	۰/۰۰۰۵۰۶**
خطا	۷۰	۴/۰۶	۱۲/۴۴	۰/۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱۲
R^2		۰/۷۱	۰/۴۵	۰/۹۸	۰/۹۹
CV		۸/۹	۸/۷۵	۷/۷۴	۵/۶۱

*، ** و *** به ترتیب معنی داری در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱

ns، عدم معنی‌داری

جدول ۲. اثر شوری و رقم بر خصوصیات گیاهچه ای یونجه

اثرات اصلی	طول ریشه چه (cm)	طول ساقه چه (cm)	وزن خشک ریشه چه (g)	وزن خشک ساقه چه (g)
شوری (mM)				
۰	۶/۲۶^{a†}	۱۰/۲^{a}	۰/۰۰۵۶^{a}	۰/۰۷۸^{a}
۶۰	۵/۵۵^{ab}	۹/۵^{ab}	۰/۰۰۴۸^{b}	۰/۰۶۷^{b}
۱۲۰	۴/۷۶^{bc}	۸/۷۱^{ab}	۰/۰۰۴۲^{c}	۰/۰۵۸^{c}
۱۸۰	۴/۱۱^{c}	۸^{b}	۰/۰۰۳۵^{d}	۰/۰۴۶^{d}
LSD	۱/۰۹	۱/۹۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۱۹
رقم				
رهنانی	۸/۵۶^{a}	۱۲/۵۶^{ab}	۰/۰۰۷۶^{a}	۰/۱۲۵^{a}
اصفهانی	۹/۳۹^{a}	۱۳/۳۹^{a}	۰/۰۰۶۸^{b}	۰/۱۱۲^{b}
قره یونجه	۶/۳۴^{b}	۱۰/۳۴^{bc}	۰/۰۰۶۷^{b}	۰/۱۰۲^{c}
رنجر	۵/۷۹^{b}	۹/۷۶^{bcd}	۰/۰۰۶۱^{c}	۰/۰۶۷^{d}
همدانی	۳/۷۱^{c}	۷/۷۱^{cde}	۰/۰۰۴۶^{d}	۰/۰۶۲^{e}
یزدی	۳/۸۱^{c}	۷/۸۱^{cde}	۰/۰۰۴۲^{e}	۰/۰۴۲^{f}
نیکشهری	۳/۶^{c}	۷/۶^{cde}	۰/۰۰۲۳^{f}	۰/۰۲۵^{g}
پایونیر	۲/۴۱^{c}	۵/۷۹^{e}	۰/۰۰۱۲^{g}	۰/۰۱۱^{g}
بمی	۲/۹^{c}	۶/۹۱^{de}	۰/۰۰۰۹^{g}	۰/۰۱۷^{i}
LSD	۱/۶۴	۲/۸۷	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۲۹

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

جدول ۳. طول ریشه‌چه (سانتی متر) ارقام یونجه تحت سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم							
	رهنانی	اصفهانی	قره‌یونجه	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۱۰/۱^{c†}	۱۱^{a}	۸/۷^{h}	۸/۳^{j}	۶/۵^{r}	۷^{p}	۶/۹^{pq}	۵^{v}	۵/۶^{u}
۶۰	۹/۵^{e}	۱۰/۵^{b}	۸/۲^{jk}	۸^{i}	۶/۲^{s}	۶/۲^{s}	۶^{t}	۴^{x}	۴/۵^{w}
۱۲۰	۸/۹^{g}	۹/۸^{d}	۷/۷^{m}	۷/۵^{n}	۵/۵^{u}	۵^{v}	۴/۵^{w}	۳/۴^{y}	۴^{x}
۱۸۰	۸/۶^{hi}	۹/۱^{f}	۷/۲^{o}	۶/۸^{q}	۴^{x}	۴/۵^{w}	۴^{x}	۲/۵^{z}	۳/۴^{y}
LSD					۱/۷۱				

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر و ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

جدول ۴. طول ساقه‌چه (سانتی متر) ارقام یونجه تحت سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم							
	رهنانی	اصفهانی	قره‌یونجه	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۱۴/۲^{b†}	۱۵/۱^{a}	۱۲/۴^{d}	۱۱^{e}	۸/۴^{h}	۹/۱^{g}	۹^{g}	۵/۸^{j}	۷/۲^{i}
۶۰	۱۳/۴^{c}	۱۴/۵^{b}	۱۱/۳^{e}	۱۰/۴^{f}	۸/۱^{h}	۸/۳^{h}	۷/۹^{h}	۴/۷^{k}	۶/۸^{j}
۱۲۰	۱۲/۷^{d}	۱۳/۶^{c}	۱۰^{f}	۹/۹^{f}	۷/۱^{i}	۷^{i}	۶/۱^{j}	۴^{l}	۵/۷^{j}
۱۸۰	۱۱/۷^{e}	۱۲/۸^{d}	۹/۳^{g}	۸/۹^{g}	۶^{j}	۶^{j}	۵^{k}	۳^{m}	۴/۹^{k}
LSD					۰/۶				

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر و ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۵. وزن خشک ریشه‌چه (گرم) ارقام یونجه تحت سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم							
	رهنانی	اصفهانی	قره‌یونجه	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۰/۰۱^{a†}	۰/۰۰۹^{b}	۰/۰۰۸۳^{c}	۰/۰۰۸۲^{c}	۰/۰۰۵۸^{f}	۰/۰۰۵۴^{fg}	۰/۰۰۳۱^{k}	۰/۰۰۲^{mn}	۰/۰۰۱۶^{nop}
۶۰	۰/۰۰۹۲^{b}	۰/۰۰۷۴^{d}	۰/۰۰۷۲^{d}	۰/۰۰۶۶^{e}	۰/۰۰۵^{gh}	۰/۰۰۴۷^{h}	۰/۰۰۲۴^{m}	۰/۰۰۱۴^{op}	۰/۰۰۰۹۶^{pq}
۱۲۰	۰/۰۰۸^{c}	۰/۰۰۶۴^{e}	۰/۰۰۶۳^{e}	۰/۰۰۵۶^{f}	۰/۰۰۴۱^{i}	۰/۰۰۳۸^{ij}	۰/۰۰۱۹^{mno}	۰/۰۰۰۹۶^{pq}	۰/۰۰۰۸۶^{qr}
۱۸۰	۰/۰۰۶۴^{e}	۰/۰۰۵۶^{f}	۰/۰۰۵۵^{f}	۰/۰۰۴۸^{h}	۰/۰۰۳۳^{k}	۰/۰۰۲۹^{kl}	۰/۰۰۱۶^{nop}	۰/۰۰۰۴۶^{rs}	۰/۰۰۰۳۶^{s}
LSD					۰/۰۰۰۵				

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر و ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

جدول ۶. وزن خشک ساقه‌چه (گرم) ارقام یونجه تحت سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم								
	رهنانی	اصفهانی	قره‌یونجه	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۰/۱۴۴^{a†}	۰/۱۲۹^{bc}	۰/۱۱۹^{d}	۰/۰۹۹^{f}	۰/۰۷۹^{h}	۰/۰۵۹^{j}	۰/۰۳۹^{l}	۰/۰۱۹^{n}	۰/۰۰۹^{op}
۶۰	۰/۱۳۴^{b}	۰/۱۱۹^{d}	۰/۱۰۹^{e}	۰/۰۷۹^{h}	۰/۰۶۹^{i}	۰/۰۴۹^{k}	۰/۰۲۹^{m}	۰/۰۱۱^{o}	۰/۰۰۸^{op}
۱۲۰	۰/۱۲۴^{cd}	۰/۱۰۹^{e}	۰/۰۹۹^{f}	۰/۰۵۹^{j}	۰/۰۵۹^{j}	۰/۰۳۹^{l}	۰/۰۲۱^{n}	۰/۰۰۸^{op}	۰/۰۰۵^{p}
۱۸۰	۰/۰۹۹^{f}	۰/۰۸۹^{g}	۰/۰۷۹^{h}	۰/۰۲۹^{m}	۰/۰۳۹^{l}	۰/۰۱۹^{n}	۰/۰۰۹^{op}	۰/۰۰۴^{p}	۰/۰۴۵^{kl}
LSD	۰/۰۰۵								

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر و ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

جدول ۷. تجزیه واریانس پراکسیداسیون لیپیدها و آنزیم‌های آنتی اکسیدان در ۴ سطح شوری و ۹ رقم یونجه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		SOD	POX	APX	CAT	GR	MDA
تکرار	۲	۸/۴۴^{ns}	۱/۷۵ ^{ns}	۰/۰۸۲ ^{ns}	۸۴۴ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۸۶ ^{ns}
رقم	۸	۵۸۸۳***	۲۷/۸۴***	۱۹/۸۵***	۱۰۶۸۶***	۰/۸۴***	۱۴۸***
شوری	۳	۲۲۷۵۹***	۸۵/۲۹***	۷۵/۵۳***	۵۷۹۵۹۰***	۱/۸۵***	۲۱/۲۸***
رقم*شوری	۲۴	۹۶۷***	۲/۴۶***	۰/۵۲***	۹۵۹ ^{ns}	۰/۰۱***	۰/۴**
خطا	۷۰	۱۲/۴۴	۰/۷۴	۰/۱۳	۱۲۴۴	۰/۰۰۵	۰/۱۵
R^2		۴/۲۴	۱۷/۳	۱۱/۸۴	۱۶/۱۹	۱۲/۱۹	۰/۹۹
CV		۰/۹۹	۰/۹۱	۰/۹۷	۰/۹۵	۰/۹۶	۳/۳

*، ** و *** به ترتیب معنی داری در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱
ns، عدم معنی‌داری

جدول ۸. اثر شوری و رقم بر پراکسیداسیون لیپیدها و آنزیم های اکسیدان در یونجه

اثرات اصلی	SOD	POX	CAT	APX	GR	MDA
شوری (mM)						
۰	۵۴/۴۴^{d†}	۳/۰۱^{d}	۵۵/۱۱^{d}	۱/۴^{d}	۰/۳۳^{d}	۱۰/۸۸^{d}
۶۰	۶۷/۱۱^{c}	۴/۱۵^{c}	۱۵۰^{c}	۲/۲^{c}	۰/۴۸^{c}	۱۱/۵۶^{c}
۱۲۰	۹۰/۱۱^{b}	۵/۶۳^{b}	۲۷۴/۸^{b}	۳/۵۹^{b}	۰/۷۳^{b}	۱۲/۲۴^{b}
۱۸۰	۱۲۰/۵۵^{a}	۷/۱^{a}	۳۹۱/۲^{a}	۵/۲۱^{a}	۰/۹۲^{a}	۱۲/۹۵^{a}
LSD	۱/۹۱	۰/۴۶	۱۹/۱۴	۰/۱۹	۰/۰۴۱	۰/۲۱
رقم						
رهنانی	۹۹/۶۶^{bc}	۶/۰۷^{ab}	۲۴۴/۱^{ab}	۳/۹۲^{c}	۰/۹۲^{b}	۶/۶۲^{g}
اصفهانی	۱۰۲/۴^{ab}	۵/۴۴^{b}	۲۴۲/۹^{ab}	۵/۱۲^{a}	۱/۰۲^{a}	۶/۹۲^{g}
قره یونجه	۹۴/۱۶^{d}	۵/۸۹^{ab}	۲۵۴/۱^{a}	۳/۵۹^{d}	۰/۸۴^{c}	۹/۰۷^{f}
رنجر	۱۰۴/۹^{a}	۶/۳۴^{a}	۲۲۴/۴^{bcd}	۴/۵۴^{b}	۰/۶۱^{e}	۱۲/۲۷^{e}
همدانی	۹۸/۴۱^{c}	۶/۳۷^{a}	۲۳۵/۴^{abc}	۳/۰۴^{e}	۰/۶۸^{d}	۱۲/۶۴^{d}
یزدی	۷۷/۶۶^{e}	۲/۳۲^{d}	۲۰۸/۳^{cde}	۲/۲۲^{f}	۰/۴۷^{f}	۱۴/۱۹^{c}
نیکشهری	۷۰/۹۱^{f}	۲/۹۳^{d}	۱۸۲/۶^{ef}	۲/۳۷^{f}	۰/۳۹^{g}	۱۴/۸۷^{b}
پایونیر	۵۳/۴۱^{g}	۳/۹۴^{c}	۲۰۰/۱^{de}	۱/۷۷^{g}	۰/۲۸^{h}	۱۴/۸۷^{b}
بمی	۴۵/۹۱^{h}	۵/۴۷^{b}	۱۶۷/۹^{f}	۱/۳۴^{h}	۰/۳۴^{g}	۱۵/۶۹^{a}
LSD	۲/۸۷	۰/۷	۲۸/۷	۰/۲۹	۰/۰۶	۰/۳۲

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.
SOD، POX، CAT، APX و GR : nanomol H_2O_2 mg protein^{-1} min^{-1}، پرولین : µmol g FW^{-1}، MDA : nanomol MDA/g

جدول ۹. میزان SOD (nanomol H2O2 mg protein-1 min-1) در ارقام یونجه تحت تاثیر سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم							
	رهنانی	اصفهانی	قره یونجه	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۳۹^{uv}†	۵۵^{r}	۴۹st	۸۴^{kj}	۷۹^{kl}	۵۹^{qr}	۵۴^{rs}	۳۶^{v}	۲۹^{w}
۶۰	۵۹^{qr}	۷۲^{kl}	۷۲^{mn}	۹۲^{i}	۸۹^{ij}	۶۶^{op}	۶۳^{pq}	۴۴^{tu}	۳۴^{vw}
۱۲۰	۱۱۹^{e}	۱۰۹^{fg}	۹۹^{h}	۱۱۲^{f}	۱۰۴^{gh}	۸۴^{jk}	۷۵^{lm}	۵۴^{rs}	۴۹st
۱۸۰	۱۷۹^{a}	۱۶۴^{b}	۱۵۴^{c}	۱۲۹^{d}	۱۱۹^{e}	۹۹^{h}	۸۹^{ij}	۷۷^{lm}	۶۹^{no}
LSD	۵/۷								

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر یا ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

جدول ۱۰. میزان POX (nanomol H2O2 mg protein-1 min-1) در ارقام یونجه تحت تاثیر سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم							
	رهنانی	اصفهانی	قره یونجه	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۳/۷^{fghi}†	۴/۲^{fg}	۴/۸^{ef}	۱/۹^{kl}	۲/۸ ^{hijk}	۱/۲^{l}	۱/۵^{kl}	۲/۷^{hijk}	۴^{fgh}
۶۰	۴/۵^{ef}	۴/۹^{ef}	۵/۷^{de}	۴/۷^{ef}	۵/۲ ^{ef}	۱/۷^{kl}	۲/۱^{jkl}	۳/۲^{ghij}	۴/۷^{ef}
۱۲۰	۶/۹^{cd}	۵/۷^{de}	۶/۹^{cd}	۷/۶^{bc}	۷/۷ ^{bc}	۲/۴^{ijkl}	۳/۲^{ghij}	۳/۹^{fgh}	۵/۸^{de}
۱۸۰	۸/۷^{ab}	۶/۸^{ce}	۷/۷^{bc}	۹/۲^{a}	۹/۶ ^{a}	۳/۸^{fghi}	۴/۷^{ef}	۵/۷^{de}	۶/۷^{c}
LSD	۱/۴								

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر یا ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

جدول ۱۱. میزان APX (nanomol H2O2 mg protein-1 min-1) در ارقام یونجه تحت تاثیر سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم							
	رهنانی	اصفهانی	قره یونجه	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۱/۹^{lmn}†	۲/۶^{hijk}	۱/۷^{mno}	۲/۳^{ijkl}	۱/۴^{nop}	۰/۷۷^{qr}	۰/۹۷^{pqr}	۰/۴۷^{r}	۰/۳۷^{r}
۶۰	۲/۸^{gh}	۳/۹^{ef}	۲/۸^{hij}	۳/۶^{f}	۲/۲^{jkl}	۱/۳^{op}	۱/۱^{opq}	۰/۹۸^{pqr}	۰/۶۷^{qr}
۱۲۰	۴/۳^{e}	۵/۷^{c}	۳/۹^{ef}	۵/۱^{d}	۳/۴^{fg}	۲/۷^{ij}	۳^{gh}	۲/۱ ^{klm}	۱/۴^{nop}
۱۸۰	۶/۵^{bc}	۷/۸^{a}	۵/۸^{c}	۶/۹^{b}	۴/۹^{d}	۳/۹^{ef}	۴/۲^{e}	۳/۴^{fg}	۲/۸^{gi}
LSD	۰/۵۹								

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر یا ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

جدول ۱۲. میزان GR (nanomol H2O2 mg protein-1 min-1) در ارقام یونجه تحت تاثیر سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم								
	رهنانی	قره یونجه	اصفهانی	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۰/۵۶^{lmn}†	۰/۴۸^{nop}	۰/۵۷^{klmn}	۰/۳۵^{qrst}	۰/۴۱^{opqr}	۰/۲۴^{tu}	۰/۱۸^{uvw}	۰/۰۸^{w}	۰/۱۱^{vw}
۶۰	۰/۷^{hijk}	۰/۶۷^{ijkl}	۰/۸۲^{gh}	۰/۵۳^{mno}	۰/۵۸^{klmn}	۰/۳۳^{rst}	۰/۲۹^{stu}	۰/۱۹^{uvw}	۰/۲۳^{tuv}
۱۲۰	۱/۰۸^{de}	۰/۹۸^{ef}	۱/۱۹^{cd}	۰/۶۸^{ijkl}	۰/۷۶^{ghi}	۰/۵۷^{lmn}	۰/۴۸^{nop}	۰/۳۷^{pqrs}	۰/۴۶^{nopq}
۱۸۰	۱/۳۳^{b}	۱/۲۲^{bc}	۱/۴۸^{a}	۰/۸۹^{fg}	۰/۹۸^{ef}	۰/۷۳^{hij}	۰/۶۲^{jklm}	۰/۴۸^{nop}	۰/۵۸^{klmn}
LSD	۰/۱۲								

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر یا ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

جدول ۱۳. میزان MDA (nanomol MDA/g)در ارقام یونجه تحت تاثیر سطوح مختلف شوری

شوری (mM)	رقم								
	رهنانی	قره‌یونجه	اصفهانی	رنجر	همدانی	یزدی	نیکشهری	پایونیر	بمی
۰	۶/۲^{vf}	۷/۹^{s}	۶/۶^{tuv}	۱۰/۹^{o}	۱۱/۳^{no}	۱۲/۸^{jk}	۱۳/۶^{hi}	۱۳/۶^{hi}	۱۴/۴^{fg}
۶۰	۶/۴^{uv}	۸/۶^{r}	۶/۸^{tuv}	۱۱/۸^{mn}	۱۲/۱^{lm}	۱۳/۷^{h}	۱۴/۴^{fg}	۱۴/۴^{fg}	۱۵/۲^{de}
۱۲۰	۶/۷^{tuv}	۹/۴^{q}	۶/۹^{tu}	۱۲/۷^{kl}	۱۳^{ijk}	۱۴/۶^{ef}	۱۵^{def}	۱۵/۲^{de}	۱۶^{bc}
۱۸۰	۶/۹^{tu}	۱۰/۱^{p}	۷/۲^{t}	۱۳/۴^{hij}	۱۳/۹^{gh}	۱۵/۴^{cd}	۱۶/۲^{b}	۱۶^{bc}	۱۶/۹^{a}
LSD					۰/۶				

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر یا ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		ارتفاع	شاخص سطح برگ	تعداد گره	وزن خشک	پروتئین
تکرار	۲	۷۰۱۰/۳***	۶/۶***	۶/۶***	۱۲۲/۰***	۶/۶***
شوری	۳	۱۴۹۸/۷***	۶۳/۶***	۵۷/۷***	۱۳۶/۱***	۱۰۰۴/۵***
تکرار*شوری	۶	۱/۸^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۲^{ns}
رقم	۸	۳۹۵/۵***	۱۶/۶***	۱۰/۲***	۲۷/۵***	۱۸۹/۴***
رقم*شوری	۲۴	۸/۳***	۰/۰۶***	۰/۷***	۰/۲۵**	۰/۰۸***
خطای b	۶۴	۱/۴^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۱^{ns}
چین	۳	۱۷۷۵/۷***	۲۲/۵***	۵۳/۱***	۸۰/۷***	۳۱/۳***
شوری*چین	۹	۹/۲**	۰/۰۴**	۰/۰۵***	۰/۱۷***	۰/۴***
رقم*چین	۲۴	۳/۲^{ns}	۰/۰۵***	۰/۰۳***	۰/۰۷**	۰/۱***
رقم*شوری*چین	۷۲	۱/۵^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۰/۰۲^{ns}
خطا	۲۱۶	۲/۴	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۴
کل	۴۳۱					
CV		۳/۴	۴/۰	۱/۴	۵/۱	۰/۵
R^2		۰/۹۸	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۹

*، ** و *** به ترتیب معنی داری در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ ns، عدم معنی‌داری

جدول ۱۵. اثر رقم، شوری و چین بر ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین یونجه

منابع تغییر	ارتفاع (cm)	شاخص سطح برگ*	تعداد گره در ساقه	وزن خشک (t/ha)	پروتئین (٪)
رقم					
رهنانی	۵۰/۴^{a†}	۳/۵۲^{a}	۷/۶۷^{a}	۴/۷^{a}	۲۲/۸۴^{a}
همدانی	۴۴/۷^{de}	۲/۳۷^{e}	۶/۹۵^{e}	۳/۴^{d}	۲۰/۴۳^{e}
اصفهانی	۴۸/۳^{b}	۳/۱۳^{b}	۷/۵۴^{b}	۴/۳^{b}	۲۲/۲۹^{b}
قره یونجه	۴۷/۰^{bc}	۲/۹۳^{c}	۷/۳۰^{c}	۳/۷^{c}	۲۱/۷۸^{c}
رنجر	۴۶/۰^{cd}	۲/۶۱^{d}	۷/۱۸^{d}	۳/۴^{d}	۲۰/۸۶^{d}
بمی	۴۱/۷^{g}	۱/۸۱^{i}	۶/۴۱^{i}	۲/۴^{h}	۱۶/۵۷^{i}
نیکشهری	۴۳/۳^{efg}	۲/۰۰^{g}	۶/۶۱^{g}	۲/۹^{f}	۱۹/۰۴^{g}
یزدی	۴۳/۹^{ef}	۲/۲۳^{f}	۶/۶۷^{f}	۳/۱^{e}	۱۹/۹۷^{f}
پایونیر	۴۲/۴^{fg}	۱/۹۲^{h}	۶/۵۲^{h}	۲/۶^{g}	۱۸/۵۵^{h}
LSD	۱/۷	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۱	۰/۰۴
شوری (mM)					
۰	۴۹/۵^{a}	۳/۲۶^{a}	۷/۷۰^{a}	۴/۶^{a}	۲۳/۳۸^{a}
۶۰	۴۷/۱^{ab}	۳/۰۲^{b}	۷/۳۳^{b}	۴/۱^{a}	۲۲/۱۱^{b}
۱۲۰	۴۳/۳^{ab}	۲/۱۰^{c}	۶/۹۲^{c}	۲/۸^{b}	۱۸/۸۶^{c}
۱۸۰	۴۱/۲^{b}	۱/۶۳^{d}	۵/۹۹^{d}	۲/۱^{c}	۱۶/۶۸^{d}
LSD	۶/۷	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۶	۰/۰۷
چین					
۱	۵۰/۱^{a}	۲/۹۹^{a}	۶/۳۷^{d}	۲/۴۳^{d}	۱۹/۷۰^{d}
۲	۴۵/۷^{b}	۲/۵۷^{b}	۷/۴۱^{b}	۳/۳۷^{c}	۲۰/۵۳^{b}
۳	۴۵/۲^{c}	۲/۵۷^{b}	۷/۷۵^{a}	۴/۵۴^{a}	۲۰/۸۸^{a}
۴	۴۰/۱^{d}	۱/۸۹^{c}	۶/۴۱^{c}	۳/۴۶^{b}	۱۹/۹۳^{c}
LSD	۰/۴	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۲

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

* سانتی‌متر سطح برگ به سانتی‌متر سطح زمین

جدول ۱۶. ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین ۹ رقم یونجه در ۴ سطح شوری

رقم	شوری (mM)	ارتفاع (cm)	شاخص سطح برگ*	تعداد گره در ساقه	وزن خشک (t/ha)	پروتئین (٪)
رهنانی	۰	۵۹/۰^{a†}	۴/۳۴^{a}	۸/۴۵^{a}	۶/۵^{a}	۲۵/۹^{a}
همدانی	۰	۴۹/۲$^{b-f}$	۳/۰۴^{g}	۷/۴۱^{de}	۴/۷^{cdef}	۲۳/۵^{f}
اصفهانی	۰	۵۱/۸^{bc}	۳/۸۶^{bc}	۸/۳۳^{a}	۵/۵^{b}	۲۵/۳^{b}
قره یونجه	۰	۵۰/۷^{bcd}	۳/۸۲^{cd}	۷/۹۵^{bc}	۴/۹^{bcde}	۲۴/۸^{c}
رنجر	۰	۵۰/۱^{bcde}	۳/۲۸^{f}	۷/۸۴^{c}	۴/۵^{defg}	۲۳/۸^{e}
بمی	۰	۴۶/۸$^{b-i}$	۲/۵۴^{jkl}	۷/۱۹^{fg}	۳/۶$^{i-n}$	۱۹/۶^{n}
نیکشهری	۰	۴۸/۵$^{b-h}$	۲/۷۷^{i}	۷/۳۹^{de}	۴/۰$^{f-j}$	۲۲/۲^{i}
یزدی	۰	۴۸/۱$^{b-h}$	۲/۹۶^{gh}	۷/۴۱^{de}	۴/۳$^{e-i}$	۲۳/۱^{g}
پایونیر	۰	۴۷/۴$^{b-h}$	۲/۷۰^{ij}	۷/۲۴^{ef}	۳/۹$^{g-l}$	۲۱/۷^{j}
رهنانی	۶۰	۵۱/۹^{b}	۴/۰۳^{b}	۸/۰۵^{b}	۵/۴^{abc}	۲۴/۶^{d}
همدانی	۶۰	۴۶/۵$^{b-i}$	۲/۸۲^{hi}	۷/۱۴^{fg}	۴/۱$^{e-i}$	۲۲/۲^{i}
اصفهانی	۶۰	۴۹/۷$^{b-f}$	۳/۶۳^{de}	۷/۷۷^{c}	۵/۱^{abcd}	۲۴/۰^{e}
قره یونجه	۶۰	۴۸/۳$^{b-h}$	۳/۴۹^{e}	۷/۵۴^{d}	۴/۴$^{d-h}$	۲۳/۶^{f}
رنجر	۶۰	۴۷/۳$^{b-h}$	۳/۱۴^{fg}	۷/۳۹^{de}	۴/۱$^{e-j}$	۲۲/۶^{h}
بمی	۶۰	۴۴/۱$^{e-m}$	۲/۳۷^{lmn}	۶/۸۴^{hi}	۳/۰$^{m-q}$	۱۸/۴^{q}
نیکشهری	۶۰	۴۵/۵$^{c-l}$	۲/۵۷^{jk}	۷/۰۹^{fg}	۳/۷$^{h-m}$	۲۰/۹^{l}
یزدی	۶۰	۴۶/۰$^{b-k}$	۲/۷۲^{ij}	۷/۰۹^{fg}	۳/۹$^{g-l}$	۲۱/۷^{j}
پایونیر	۶۰	۴۴/۹$^{d-l}$	۲/۴۷^{klm}	۷/۰۶^{fg}	۳/۲$^{k-p}$	۲۰/۴^{m}
رهنانی	۱۲۰	۴۸/۷$^{b-g}$	۳/۰۸^{g}	۷/۴۲^{de}	۴/۴$^{d-i}$	۲۱/۴^{k}
همدانی	۱۲۰	۴۲/۵$^{g-o}$	۲/۰۳^{o}	۶/۸۲^{hi}	۲/۹$^{n-r}$	۱۹/۰^{p}
اصفهانی	۱۲۰	۴۶/۱$^{b-k}$	۲/۶۸^{ij}	۷/۲۵^{ef}	۳/۹$^{f-k}$	۲۰/۹^{l}
قره یونجه	۱۲۰	۴۵/۳$^{d-l}$	۲/۴۸^{klm}	۷/۱۵^{fg}	۳/۱$^{l-p}$	۲۰/۴^{m}
رنجر	۱۲۰	۴۴/۳$^{e-m}$	۲/۲۵^{n}	۷/۰۰^{gh}	۲/۹$^{n-s}$	۱۹/۵^{n}
بمی	۱۲۰	۳۹/۳^{lmno}	۱/۵۳^{q}	۶/۵۷^{jkl}	۱/۷^{tuv}	۱۵/۲^{x}
نیکشهری	۱۲۰	۴۰/۹$^{i-o}$	۱/۵۸^{q}	۶/۷۲^{ij}	۲/۲$^{q-u}$	۱۷/۵^{s}
یزدی	۱۲۰	۴۲/۱$^{h-o}$	۱/۸۳^{p}	۶/۸۰^{i}	۲/۴$^{p-t}$	۱۸/۵^{q}
پایونیر	۱۲۰	۴۰/۱$^{k-o}$	۱/۴۸^{q}	۶/۶۵^{ijk}	۱/۹^{tuv}	۱۷/۱^{u}
رهنانی	۱۸۰	۴۷/۹$^{b-h}$	۲/۶۴^{ijk}	۶/۷۸^{i}	۳/۳$^{j-o}$	۱۹/۳^{o}
همدانی	۱۸۰	۴۰/۴$^{j-o}$	۱/۵۸^{q}	۶/۴۲^{l}	۲/۱$^{r-v}$	۱۶/۸^{v}
اصفهانی	۱۸۰	۴۵/۶$^{b-l}$	۲/۳۵^{mn}	۶/۸۰^{hi}	۲/۷$^{o-s}$	۱۸/۸^{p}
قره یونجه	۱۸۰	۴۳/۵$^{f-n}$	۱/۹۵^{op}	۶/۵۸^{jkl}	۲/۴$^{p-t}$	۱۸/۱^{r}
رنجر	۱۸۰	۴۲/۳$^{g-o}$	۱/۷۸^{p}	۶/۵۰^{kl}	۲/۱^{stuv}	۱۷/۳^{t}
بمی	۱۸۰	۳۶/۷^{o}	۰/۸۲^{s}	۵/۰۳^{o}	۱/۳^{v}	۱۲/۹^{z}
نیکشهری	۱۸۰	۳۸/۳^{mno}	۱/۱۰^{r}	۵/۲۵^{mn}	۱/۸^{tuv}	۱۵/۴^{x}
یزدی	۱۸۰	۳۹/۳^{lmno}	۱/۴۱^{q}	۵/۴۰^{m}	۱/۹^{tuv}	۱۶/۴^{w}
پایونیر	۱۸۰	۳۷/۳^{no}	۱/۰۲^{r}	۵/۱۵^{no}	۱/۶^{uv}	۱۴/۸^{y}
LSD		۶/۳	۰/۱۸	۰/۱۹	۰/۷	۰/۱

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر و ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

* سانتی‌متر سطح برگ به سانتی‌متر سطح زمین

جدول ۱۷. ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین ۹ رقم یونجه در ۴ چین

رقم	چین	شاخص سطح برگ*	تعداد گره در ساقه	وزن خشک (t/ha)	پروتئین (٪)
رهنانی	۱	۴/۵^{a}	۷/۱^{ijk}	۳/۵$^{g-k}$	۲۲/۳^{de}
همدانی	۱	۲/۸^{j}	۶/۳^{q}	۲/۴$^{o-s}$	۱۹/۸^{p}
اصفهانی	۱	۴/۲^{b}	۶/۹^{klm}	۳/۲$^{h-o}$	۲۱/۸^{f}
قره یونجه	۱	۳/۵^{e}	۶/۶^{o}	۲/۷$^{l-q}$	۲۱/۱^{ij}
رنجر	۱	۳/۰^{h}	۶/۵^{op}	۲/۴$^{o-s}$	۲۰/۳^{mn}
بمی	۱	۲/۲^{o}	۵/۶^{v}	۰/۷^{u}	۱۵/۹^{z}
نیکشهری	۱	۲/۵^{l}	۶/۰^{rst}	۲/۰^{rst}	۱۸/۴^{u}
یزدی	۱	۲/۷^{k}	۶/۰^{rst}	۲/۱^{qrst}	۱۹/۳^{r}
پایونیر	۱	۲/۴^{m}	۵/۹^{stu}	۱/۵^{t}	۱۷/۹^{v}
رهنانی	۲	۳/۷^{d}	۸/۰^{bc}	۴/۷^{cd}	۲۳/۰^{b}
همدانی	۲	۲/۴^{m}	۷/۳^{gh}	۳/۴$^{h-n}$	۲۰/۷^{k}
اصفهانی	۲	۳/۱^{g}	۷/۹^{cd}	۴/۲$^{c-g}$	۲۲/۶^{c}
قره یونجه	۲	۳/۰^{h}	۷/۷^{de}	۳/۷$^{e-j}$	۲۲/۲^{e}
رنجر	۲	۲/۷^{k}	۷/۶^{ef}	۳/۲$^{h-n}$	۲۱/۲^{hi}
بمی	۲	۱/۸^{r}	۶/۸^{mn}	۲/۴^{pqrs}	۱۶/۷^{x}
نیکشهری	۲	۲/۰^{p}	۷/۰^{jkl}	۲/۸$^{l-q}$	۱۹/۲^{rs}
یزدی	۲	۲/۳^{n}	۷/۱^{ijk}	۳/۰$^{i-p}$	۲۰/۲^{no}
پایونیر	۲	۱/۹^{q}	۶/۹^{klm}	۲/۶$^{n-r}$	۱۸/۷^{t}
رهنانی	۳	۴/۰^{c}	۸/۴^{a}	۶/۴^{a}	۲۳/۵^{a}
همدانی	۳	۲/۴^{m}	۷/۷^{e}	۴/۶^{cd}	۲۰/۹^{j}
اصفهانی	۳	۳/۳^{f}	۸/۴^{a}	۵/۵^{b}	۲۲/۹^{b}
قره یونجه	۳	۳/۰^{h}	۸/۱^{b}	۴/۹^{bc}	۲۲/۴^{cd}
رنجر	۳	۲/۷^{k}	۸/۰^{bc}	۴/۴^{cde}	۲۱/۴^{g}
بمی	۳	۱/۸^{r}	۷/۱^{ijk}	۳/۴$^{h-m}$	۱۷/۳^{w}
نیکشهری	۳	۲/۰^{p}	۷/۲^{ghi}	۳/۹$^{d-h}$	۱۹/۶^{q}
یزدی	۳	۲/۳^{n}	۷/۴^{fg}	۴/۲$^{c-g}$	۲۰/۵^{kl}
پایونیر	۳	۱/۹^{q}	۷/۲^{hij}	۳/۶$^{f-j}$	۱۹/۱^{s}
رهنانی	۴	۲/۹^{i}	۷/۱^{ijk}	۴/۷^{bc}	۲۲/۴^{cd}
همدانی	۴	۱/۶^{s}	۶/۴^{pq}	۳/۵$^{g-k}$	۲۰/۱^{o}
اصفهانی	۴	۲/۵^{l}	۶/۹^{lm}	۴/۴^{cdef}	۲۱/۷^{f}
قره یونجه	۴	۲/۲^{o}	۶/۶^{no}	۳/۸$^{e-i}$	۲۱/۴^{gh}
رنجر	۴	۱/۹^{q}	۶/۵^{op}	۳/۴$^{g-l}$	۲۰/۴^{lm}
بمی	۴	۱/۴^{u}	۵/۸^{tu}	۲/۴^{pqrs}	۱۶/۳^{y}
نیکشهری	۴	۱/۴^{u}	۶/۱^{r}	۲/۹$^{j-q}$	۱۸/۸^{t}
یزدی	۴	۱/۵^{t}	۶/۱^{rs}	۳/۱$^{i-p}$	۱۹/۷^{pq}
پایونیر	۴	۱/۳^{v}	۶/۰^{rst}	۲/۶$^{m-r}$	۱۸/۳^{u}
LSD		۰/۱	۰/۱	۰/۷	۰/۱

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر و ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

* سانتی‌متر سطح برگ به سانتی‌متر سطح زمین

جدول ۱۸. ارتفاع، شاخص سطح برگ، تعداد گره در ساقه، وزن خشک و پروتئین یونجه در ۴ سطح شوری و ۴ چین

شوری (mM)	چین	ارتفاع (cm)	شاخص سطح برگ*	تعداد گره در ساقه	وزن خشک (t/ha)	پروتئین (٪)
۰	۱	۵۸^{a†}	۳/۷۹^{a}	۷/۱۱^{e}	۳/۵^{ef}	۲۲/۹^{c}
۰	۲	۵۱^{c}	۳/۳۵^{c}	۸/۱۱^{b}	۴/۵^{bc}	۲۳/۶^{b}
۰	۳	۵۱^{c}	۳/۲۹^{c}	۸/۴۵^{a}	۵/۷^{a}	۲۴/۰^{a}
۰	۴	۴۳^{fg}	۲/۶۰^{e}	۷/۰۹^{e}	۴/۶^{b}	۲۲/۹^{c}
۶۰	۱	۵۵^{b}	۳/۴۸^{b}	۶/۶۶^{g}	۳/۰^{fg}	۲۱/۵^{g}
۶۰	۲	۴۴^{e}	۳/۰۵^{d}	۷/۶۹^{c}	۴/۰^{cd}	۲۲/۲^{e}
۶۰	۳	۴۷^{d}	۳/۱۲^{d}	۸/۱۴^{b}	۵/۲^{a}	۲۲/۷^{d}
۶۰	۴	۳۹^{g}	۲/۴۵^{f}	۶/۸۲^{f}	۴/۱^{bcd}	۲۱/۸^{f}
۱۲۰	۱	۴۷^{d}	۲/۵۶^{ef}	۶/۳۰^{i}	۱/۸^{h}	۱۸/۳^{k}
۱۲۰	۲	۴۱^{fg}	۲/۱۸^{g}	۷/۳۸^{d}	۲/۷^{g}	۱۹/۱^{i}
۱۲۰	۳	۴۰^{fg}	۲/۱۶^{g}	۷/۶۸^{c}	۳/۸^{de}	۱۹/۳^{h}
۱۲۰	۴	۳۶^{h}	۱/۵۱^{i}	۶/۳۵^{hi}	۲/۸^{g}	۱۸/۵^{j}
۱۸۰	۱	۴۲^{ef}	۲/۱۲^{g}	۵/۴۰^{j}	۱/۳^{i}	۱۵/۹^{o}
۱۸۰	۲	۳۹^{g}	۱/۷۰^{h}	۶/۴۴^{h}	۲/۰^{h}	۱۷/۰^{m}
۱۸۰	۳	۳۹^{g}	۱/۷۰^{h}	۶/۷۴^{fg}	۳/۲^{fg}	۱۷/۳^{l}
۱۸۰	۴	۳۳^{i}	۰/۹۹^{J}	۵/۳۹^{j}	۲/۱^{h}	۱۶/۴^{n}
LSD		۳	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۵	۰/۱

† میانگین هر عامل آزمایشی در هر سطر و ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

* سانتی‌متر سطح برگ به سانتی‌متر سطح زمین

منابع مورد استفاده

1. Allen, R. G., Pereira, D., Raes, D. and Smith, M. (2000). FAO irrigation and drainage paper, crop evapotranspiration (guidelines for computing crop water requirements). FAO. 56: 1-326.
2. Alvesda Costa, P. H., Azevedo Neto, A. D., Alves Bezerra, M., Tarquinio paisco, J. and Gomes-Filho, E. (2005). Antioxidantive–enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Plant Physiol. 17 (4): 353–361.
3. Appel, K. and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55: 373-399.
4. Ashraf, M., Mcneily, T., and Bradshaw, A. D. (1997). Selection and habitability of tolerance to sodium chloride in four forage species. Crop Sci. 227: 232-234.
5. Bahar, M., Ghobadi, S., Erfani Moghadam, V., Yamchi, A. and Talebi Badaf, M. (1385). Evaluation of Iranian alfalfa with ESTS. J. Agric. Res. 2: 141-151.
6. Baily, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Sci. Res. 14: 93–107.
7. Bor, M., Özdemir, F. and Türkan, I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Sci. 164: 77–84.
8. Borsani, O., Diaz, P., Agius, M. F., Valpuesta, V. and Monza, J. (2001). Water stress generates an oxidative stress through the induction of a specific Cu/Zn superoxide dismutase in *Lotus corniculatus* leaves. Plant Sci. 161: 757–763.
9. Brugnoli, E., and Bjorkman, D. (1992). Growth of cotton under continous salinity stress: Influence of allocation pattern, stomatal and non stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. Planta. 187: 335-347.
10. Chang, C. J., and Kao, C. H. (1998). H_2O_2 Metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness. Plant Growth Reg. 25: 11-15.
11. Chen, W. P., Li, P. H. and Chen, T. H. H. (2000). Glycine-betaine increases chilling tolerance and reduces chilling-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. Plant Cell Environ. 23: 609-618.
12. Del Rio, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M. and Barroso, J. B. (2006). Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. production, scavenging, and role in cell signaling. Plant Physiol. 141: 330–335.
13. Demiral, T. and Turkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environ. Exp. Botany. 53: 247–257.
14. Fajeria N. K. (1374). Increased in yield of agronomy plants. Translation with Hashemi Dezfuli, A., Kuchaki, A., and Bannayan Aval, M. Mashahd University.
15. Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cells. Soil Sci. Plant Nut. 48: 357-364.

16. Hashemi Jazi, M. (1379). Effect of salinity on growing of alfalfa cultivars. Abstract aricles in 6 th Agronomy and Plant Breeding Congress. Iran. Babolsar. P 248.
17. Heidari, M. and Mesri, F. (2008). Salinity effects on compatible solutes, antioxidants enzymes and ion content in three wheat cultivars. Pakistan J. Biol. Sci. 11(10): 1385-1389.
18. Hoffman, G. J., Mass, E. V., and Rawlins, S. L. (1975). Salinity ozone interactive effects on alfalfa yield and water relations. J. Environ. 4: 326-331.
19. Huang, B. (2000). Role of morphological and physiological characteristics in drought resistance of plants. In: R. E. Willkinsion (ed), *Plant-environmental interactions*. Marcel Dekker Inc. New York.
20. Jiang, M. and Zhang, J. (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative offence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. Plant Cell Physiol. 42: 1265-1273.
21. Khanna-Chopra, R. and Selote D. S. (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. Environ. Exp. Botany. 60: 276–283.
22. Kuchaki, A., and Riyazi Hamedani, A. (1375). Comparison of 6 alfalfa cultivars. J. Iranian Agron. Sci. 2: 25-29.
23. Lakziyan, M. (1378). Evolution on Khomeini shahr soil series in Lavark. Najaf abad. BS. C. Isfahan University of Technology.
24. Madhava , K. V. And Sresty, T. V. S. (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea in response to Zn and Ni stresses. Plant Sci. 157: 113-128.
25. McDonald, M. B. (1999). Seed deterioration: physiology, repair, and assessment. Seed Sci. Technol. 27(11): 177–237.
26. Moradi, F. and Abdelbaghi, M. I. (2007). Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. Ann. Botany. 99: 1161–1173.
27. Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ. 25: 239-250.
28. Panda, S.K., and Upadhyay, R.K. (2004). Salt stress induces oxidative alterations and antioxidative defense in the roots of Lemna minor. Biol. Plant. 48(2): 249-253.
29. Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivikanadan, M. V. (2004). Drought-induced response of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. J. Plant Physiol. 161: 1189-1202.
30. Rezaiyan, M., and Ghamari Zerai, A. (1379). Effect of salinity on Ghareh yonje, 2129 Australia and Spres yield. Abstract aricles in 6 th Agronomy and Plant Breeding Congress. Iran. Babolsar. P 275.
31. Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Sci. 163: 1037-1046.
32. Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. and Tal, M. (2001). Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: the root antioxidative system. Physiologia Plantarum. 112: 487–494. [33]Shepherd, A., MC-Ginn, S. M. and Wyseure, C. L. (2002). Simulation of the effect of water shortage on the yields of winter wheat in North–East England. Ecol. Modeling. 147: 41-52.
33. Siosemardeh, A. (2002). Yield and growth physiological aspects in relation to drought tolerance of wheat varieties. Ph. D. thesis. Agronomy and plant breeding faculty. Tehran University.
34. Smith, D., Kehr, W. R., and Tear, M. V. (1995). Establishment and management of alfalfa. American Society of Agronomy Madison. Wisconsin. U. S. A. 432 p.
35. Sultana, N., Ikeda, T. and Ltoh, R. (1999). Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environ. Exp. Botany. 42: 211-220. [37]Tohidi-Moghadam, H. R., Shirani-Rad, A. H. and Nour-Mohammadi, G. (2009). Effect of super absorbent application on antioxidant enzyme activities in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under water stress conditions. Ame. J. Agri. Biol. Sci. 4(3): 215-223.
36. Wilson, D. K., Jamieson, P. D., Jermyrand, W. A. and Hanson, R. (2000). Models of growth and water use of field pea (*Pisum sativum* L.), In: M. C. Hebbleth waite and T.C. K. Dawkins (eds), The peap crop. Butterworths London, UK.
37. Zamanian, M. (1382). Evaluation of quality and quantity yield of alfalfa cultivars under several harvests. J. of Natural Res. and Agric. Res. 1: 1-18.
38. Zekri, M., and Parsons, L. R. (1990). Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on root distribution, growth and stomatal conductance of sour orange seedlings. Plant and Soil. 129: 137-143.