

ارزیابی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام اصلاح شده جدید و اکوتیپ‌های یونجه (*Medicago Sativa* L.) تحت تنش کم‌آبی

پریسا مرادیان^۱، وره‌رام رشیدی^{۲*}، حسن منیری فر^۳ و بهمن پاسبان اسلام^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۰۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۲/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۰۹

چکیده

آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات آذربایجان شرقی واقع در منطقه خسرو شاه طی دو سال زراعی (۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶) اجرا گردید. در کرت‌های اصلی عامل آبیاری در سه سطح شامل توقف آبیاری بعد از چین اول، توقف آبیاری بعد از چین دوم و توقف آبیاری بعد از چین سوم (کرت‌ها بطور معمولی با کنتور آب کنترل شده آبیاری کامل شد و هیچ تنشی اعمال نشد)، بود. عامل دوم شامل هفت نوع اکوتیپ سنتتیک الف، سنتتیک ب، آذر، جوشین، ساتلو، خواجه و شاهد محلی خسروشاه بود، که در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. با توجه به اینکه سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ سال استقرار بود، تجزیه واریانس ساده داده‌های سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ انجام شد. نتایج نشان داد که عملکرد علوفه بین اکوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط تنش کم‌آبی شدید (توقف آبیاری بعد از چین اول) در مقایسه با شرایط کامل آبیاری، ۲/۵ تن در هکتار کاهش نشان داد. بیشترین وزن تر علوفه در شرایط آبیاری کامل با ۸/۴ تن در هکتار متعلق به دو اکوتیپ سنتتیک الف و جوشین بود. در حالی که در تنش کم‌آبی شدید (توقف آبیاری بعد از چین اول) به ترتیب اکوتیپ‌های جوشین (۵/۷۶)، سنتتیک ب (۵/۴۵) و سنتتیک الف (۵/۳۳) تن در هکتار) بیشترین عملکرد علوفه را داشتند. فعالیت پرولین (۷۸۴/۵ میلی‌گرم/گرم وزن تر برگ) و آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (۱۰/۹۴ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) و کاتالاز (۱/۰۰۵ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) افزایش معنی‌داری را بین اکوتیپ‌ها تحت تنش کم‌آبی نشان دادند. شاخص‌های MP، GMP، STI و HM به عنوان مناسب‌ترین شاخص‌های تحمل به تنش شناخته شدند که بیشترین همبستگی را با عملکرد علوفه در شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی داشتند. اکوتیپ‌های جوشین، سنتتیک الف و سنتتیک ب از نظر شاخص‌های مذکور دارای پایداری عملکرد بالاتری در شرایط تنش کم‌آبی بوده و می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی به منظور افزایش تحمل به کمبود آب مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: اکوتیپ، یونجه، تنش خشکی، عملکرد علوفه، مقاومت

۱- دانش‌آموخته دکتری اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- دانشیار، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران.

مقدمه

یونجه با نام علمی *Medicago sativa* از جمله گیاهان علوفه‌ای بسیار ارزشمند در ایران به-شمار می‌رود، که منبع اصلی تامین انرژی و پروتئین برای دام‌های موجود در استان آذربایجان شرقی است، که با داشتن ۱۴/۸ درصد از سطح زیر کشت و ۱۰/۹ درصد از تولید یونجه کشور، مقام اول را در این زمینه به خود اختصاص داده است (Ahmadi et al., 2019). یونجه از گیاهان علوفه‌ای مهم در جهان است. یونجه به دلیل تولید علوفه‌ای با کیفیت بسیار بالا (دارا بودن بیش از ۲۰ درصد پروتئین)، تنوع در مصرف به صورت محصول تازه، خشک و سیلوی یونجه و سازگاری بالا در شرایط محیطی مختلف، در کشاورزی پایدار و پایداری تولید نقش مهمی ایفا می‌کند (Shoushi Dezfuli et al., 2017). تنوع ژنتیکی بالا در یونجه سازگاری این گیاه را برای شرایط مختلف آب و هوایی مانند گرمای شدید، سرما، کم آبی، شوری و آفات افزایش داده است. این انعطاف پذیری همراه با نیروی تولید بالا تحت شرایط تنش‌زا و مطلوب، دلیل شناخته شدن آن به عنوان ملکه گیاهان علوفه‌ای است (Nekoyanfar et al., 2017). در جهان شکافی بین میزان تولید و نیاز به علوفه است. یونجه از پتانسیل بالایی جهت غلبه بر این مشکل برخوردار است. چرا که این گیاه علوفه‌ای عملکردی بالا با کیفیت بسیار خوب تولید نموده و دارای پایداری عملکرد بیشتری در سطح مزرعه است (Hamd Alla et al., 2013). انتخاب رقم مناسب یونجه، از مهمترین مدیریت‌ها جهت افزایش عملکرد علوفه یونجه به شمار می‌رود. بنابراین برای برداشت عملکردی مطلوب از یونجه، کشت رقم مناسبی از یونجه که سازگار به شرایط آب و هوایی و خاک محیطی، مطلوب

باشد، امری ضروری است (Ghanizadeh et al., 2014). هدف استراتژیک تحقیقات اصلاحی بر روی یونجه، شامل ایجاد ارقام سنتتیک است. اصلاح کلاسیک به عنوان عملی‌ترین راه برای توسعه ارقام گیاهی مطلوب برای هر منطقه محسوب می‌شود. روش تولید ارقام سنتتیک به طور گسترده‌ای در اصلاح گیاهان دگرگشن به کار می‌رود. رقم سنتتیک امکان استفاده بخشی از هتروزیس را در گیاهانی که کنترل گرده‌افشانی در آنها میسر نیست، فراهم می‌کند. در شرایط تنش مانند خشکی، عملکرد ارقام سنتتیک به مراتب بهتر از ارقام هیبرید می‌باشد. بنابراین تولید ارقام سنتتیک روش اصلاحی مناسبی برای افزایش عملکرد حتی در شرایط تنش خشکی به شمار می‌رود (Welu, 2015). در بین عوامل تنش‌زا، خشکی، بیش‌ترین اثر منفی را بر رشد و عملکرد گیاهان می‌گذارد (Anjum et al., 2017; Nabi et al., 2013). از سوی دیگر به دلیل افزایش تقاضای آب برای صنعتی شدن سریع و رشد نرخ بیشتر جمعیت، سهم آب کشاورزی در دهه‌های آینده کاهش خواهد یافت، بنابراین کمبود آب برای تولید پایدار مواد غذایی از طریق حفاظت و مدیریت منابع آبی حتی در مناطق با بارش‌های بالا، بایستی مد نظر قرار گیرد (Panigrahi and Sahu, 2013). در ایران نیز کم آبی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده رشد و عملکرد گیاهان است (Hesadi et al., 2015). کاهش آب در دسترس باعث شده است تا تحقیقات روی نیاز آبی گیاهان زراعی و تاثیر کمبود آب بر عملکرد و کیفیت محصول مورد توجه قرار گیرد (Snowden et al., 2013). اثر خشکی وابسته به زمان و شدت تنش می‌باشد. خشکی بر روی گیاه از طریق روش‌های پیچیده فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیک در

تنش عمل می‌کند (Szabados and Savoure, 2010). تجمع پرولین در بسیاری از گونه‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های غیر زنده به ویژه تحت تنش‌های شوری و خشکی به منظور حفظ تورژسانس سلولی و محافظت از ساختارهای سلولی در جهت بهبود رشد گیاهان، توسط بسیاری از محققان گزارش شده است (Khalil et al., 2016; Shirinpour et al., 2020). شاخص‌های متفاوتی به منظور بررسی تحمل به تنش کم آبی در گیاهان زراعی به کار برده می‌شود. در پژوهشی با آزمایش اکوتیپ‌های مختلف یونجه با استفاده از شاخص‌های تحمل به خشکی، نشان داده شد که در تنش ملایم و شدید کم آبی شاخص‌های GMP, MP, HARM و STI مناسب‌ترین شاخص‌ها جهت ارزیابی ارقام متحمل به تنش کم آبی می‌باشند (Basafa and Taherian, 2010). در آزمایش دیگری با به کار بردن شاخص‌های تحمل به خشکی، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد علوفه در هر دو شرایط آبیاری کامل و تنش کم آبی و شاخص‌های GMP, MP و STI وجود داشت که نشان از ارجحیت شاخص‌های نامبرده جهت ارزیابی تنش کم آبی در یونجه می‌باشد (Beheshti, 2016). با توجه به محدودیت منابع آب و کاهش بارندگی در کشور، شناسایی ساز و کارهای تحمل به تنش کم آبی و انتخاب ارقام مناسب با هدف بهبود و اصلاح عملکرد یونجه اهمیت بسزایی دارد (Hesadi et al., 2015). از این رو هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تنش کم آبی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام و اکوتیپ‌های مختلف یونجه است، تا با مطالعه این اثرات، امکان شناسایی ارقام متحمل به تنش کم آبی در یونجه فراهم شود.

سطوح ژنتیکی و مولکولی مانند فتوسنتز، تنفس، جذب آب و مواد غذایی، فعالیت آنزیم‌ها، متابولیسم مواد آلی، مهار و یا افزایش تظاهر ژن‌های کد گذاری کننده پروتئین‌های تنش و عوامل رونویسی تاثیر می‌گذارد (Anjum et al., 2017). تنش کم آبی منجر به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در سطح مولکولی و در نتیجه باعث ایجاد چالش‌های فیزیولوژیکی متعددی برای گیاه می‌شود که اصطلاحاً تنش اکسیداتیو گفته می‌شود (Pyngrope et al., 2013). تنش اکسیداتیو معمولاً هنگامی اتفاق می‌افتد که گیاه در معرض انواع مختلفی از تنش قرار می‌گیرد. تولید آنتی-اکسیدان یکی از راه‌های مقابله گیاهان با این تنش است (Kumar et al., 2017). به منظور جلوگیری از تنش اکسیداتیو، گیاهان سیستم تکامل یافته سم‌زدایی دارند که شامل آنزیم‌های خاصی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز است که می‌توانند آسیب سلولی را به حداقل برسانند (Gill and Tuteja, 2010). گزارش‌های متعددی مبنی بر فعالیت‌های پیچیده کاتالاز تحت تنش کم آبی شامل بیان ژن، ترجمه و انتقال پروتئین، وجود دارد. زیرا، کاتالازها نقش مهمی در تحمل گیاهان نسبت به تنش کم آبی دارند (Sofa et al., 2015). مطالعات مختلف نشان داده است که میزان بالای کلروفیل و کارتنوئید با تحمل به تنش کمبود آب در گیاهان همراه است (Zlatev and Lidon, 2012). علاوه بر این، در بین پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه، نقش پرولین در پاسخ به تنش‌های غیر زنده بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است. علاوه بر نقش پرولین به عنوان اسمولیت-های سازگار، تجمع پرولین باعث تعادل در ردوکس (واکنش اکسایش-کاهش) سلولی شده و نیز به عنوان سیگنال تنظیم کننده رشد مرتبط با

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت مزرعه‌ای در ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات آذربایجان شرقی واقع در منطقه خسروشاه طی سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ اجرا گردید. موقعیت جغرافیایی و آب و هوای دشت تبریز از طرف غرب بوسیله دریاچه ارومیه، از شمال بوسیله رشته کوه‌های میشو، از شمال شرق بوسیله رشته کوه موردق و از طرف شرق و جنوب شرق بوسیله رشته کوه سه‌سهند محدود می‌شود. میانگین دما در تابستان ۲۴ درجه سلسیوس، حداکثر مطلق ۴۲/۵، حداقل مطلق به ۲۵/۴- درجه سلسیوس در زمستان می‌رسد. میانگین بارندگی سالیانه حدود ۲۷۰ میلی متر، رطوبت نسبی حداکثر ۷۹ و حداقل ۳۷ درصد و میزان تبخیر و تعرق پتانسیل حدود ۱۴۰۰ میلی متر در سال است. خلاصه آمار هواشناسی محل اجرای آزمایش در (جدول ۱) ارائه شده است. pH خاک‌های منطقه در محدوده‌ی قلیایی تا متوسط می باشد. جهت تجزیه خاک محل اجرای طرح، قبل از انجام عملیات کاشت یک نمونه خاک از ۶ نقطه‌ی مزرعه از اعماق ۰-۳۰ سانتی‌متر تهیه و به آزمایشگاه ارسال گردید. پس از تجزیه، وضعیت فیزیکی و شیمیایی خاک به شرح (جدول ۲) تعیین شد.

آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در کرت های اصلی عامل آبیاری در سه سطح، در سطح اول آبیاری تا پایان چین اول، در سطح دوم آبیاری تا پایان چین دوم و در سطح سوم آبیاری تا پایان چین سوم (آبیاری کامل)، صورت پذیرفت. عامل فرعی شامل هفت رقم و اکوتیپ یونجه بودند. مواد گیاهی مورد بررسی شامل ارقام اصلاح شده سنتتیک الف،

سنتتیک ب و آذر و اکوتیپ های جوشین، ساتلو، خواجه و شاهد محلی خسروشاه بود، این اکوتیپ-ها منتخب از آزمایشات قبلی هستند که در چندین پروژه تحقیقاتی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و از عملکرد و کیفیت مناسبی برخوردار هستند، که به عنوان اکوتیپ های پر پتانسیل برای منطقه شناسایی شده بودند (Monirifar and abdollahi, 2014; Monirifar and Sadegzade, 2015; Monirifar et al., 2022).

هر واحد آزمایشی (کرت فرعی) و بلوک (هر کرت اصلی ۳۵ متر) به ترتیب به طول ۴/۵ و ۱۱۰ متر بود، به طوری که ۵ ردیف به فاصله ۵۰ سانتی متر و ۶ بوته در هر کرت به فاصله ۳۰ سانتیمتر (در هر کرت ۳۰ بوته)، به تعداد ۶۳ کرت، از هر یک اکوتیپ بطور تصادفی کشت شد. در پاییز سال ۱۳۹۴ با زدن شخم عمیق و دیسک بسترکاشت آماده شد. بدین منظور، در تاریخ ۱۳۹۴/۱۲/۲۲ بذور ۷ نوع اکوتیپ در ۳۱۵۰ عدد گلدان پلاستیکی کوچک داخل خاک در عمق سطحی کشت شد. تا ۳۲ روز بعد از آبیاری، رشد گیاهچه مورد نظر شروع شد. در تاریخ ۱۳۹۵/۲/۲۶ گیاه یونجه بصورت نشاء کاری به کرت‌های آزمایش انتقال داده شد. بدین جهت ابتدا، در بهار سال ۱۳۹۵ نیز یک شخم سطحی زده شده و زمین توسط دیسک و لولر مسطح گردید. بعد از رفع سرمای بهار از نیمه دوم اردیبهشت ماه اقدام به کاشت گردید. عمق کاشت گیاهچه حدود ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. کاشت به صورت دستی انجام شد. بر اساس آزمون خاک، میزان کود مورد نیاز و روش مصرف کود شیمیایی در سال اول یونجه تعیین شد. با توجه به اینکه یونجه از تیره لگومینوز بوده و قادر به تثبیت نیتروژن هوا توسط باکتری های موجود در گره

تاریخ ۱۳۹۶/۳/۲۹ تنش اول کم آبی (آبیاری تا پایان چین اول) بوسیله‌ی کنتور آبیاری از طریق شلنگ انجام و مقدار آن با استفاده از یک دستگاه کنتور حجمی ۲ اینچ کنترل شد. در تاریخ ۱۳۹۶/۴/۱۷ آبیاری تا پایان چین دوم (تنش دوم) و در تاریخ ۱۳۹۶/۵/۳۱ آبیاری تا پایان چین سوم (آبیاری کامل) صورت گرفت، بطوری‌که نمونه-برداری صفات در چین‌های دوم و سوم به ترتیب در تاریخ ۱۳۹۶/۴/۳۰ و ۱۳۹۶/۶/۳۰ انجام گرفت. برای تجزیه واریانس از میانگین اعداد مربوط به کلیه چین‌ها استفاده شد. نمونه برداری از برگ-های جوان و در نقطه یکسانی از سطح برگ انجام گرفت. نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک و آنزیم‌ها در زمان چین‌های یاد شده بوسیله‌ی تانک ازت مایع به فریزر ۸۰- آزمایشگاه دانشگاه تبریز انتقال داده شد.

در تاریخ ۱۳۹۶/۷/۳۰، برای تعیین میزان کلروفیل a، b و محتوای کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ از روش آرنون (Arnon, 1967) استفاده شد. بدین منظور ۵/۰ گرم از برگ تازه به همراه پنج میلی لیتر استون ۸۰ درصد ($\frac{W}{V}$) ساییده شد. پس از ۱۵ دقیقه سانتریفوژ در دور ۳۰۰۰ در دقیقه و دمای چهار درجه سلسیوس، به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و جذب عصاره حاصل در طول موجهای ۶۴۳، ۶۴۵، ۵۱۰ و ۴۸۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و در روابط زیر جهت اندازه‌گیری پارامترها وارد شد. در این روابط، C کلروفیل، A پارامترها وارد شد. در این روابط، C کلروفیل، A میزان نور جذب شده، V حجم محلول و W وزن نمونه برگ می‌باشد.

$$\begin{aligned} Chl_a &= 12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645}) \times V/P50\%M0W \\ Chl_b &= 22.9 (A_{645}) - 2.69 (A_{663}) \times V/P50\%M0W \\ Carotenoid &= 7.6 (A_{480}) - 14.9 (A_{510}) \times V/P50\%M0W \end{aligned}$$

های ریشه می‌باشد، لذا ۲۵ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار (هنگام آماده‌سازی زمین) قبل از کاشت به کار برده شد. با توجه به اثرات مفید کودهای پتاسیمی بر خصوصیات کمی و کیفی یونجه، ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود پتاسیم به کار برده شد. میزان کاربرد کود فسفره نیز ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار بود. برداشت علوفه چین اول یونجه تازه کشت شده براساس زمان رشد و در مرحله ۵۰-۷۵ گلدهی انجام شد. ولی درچین‌های بعدی در مرحله ظهور ۱۰-۱۵ گل‌های بنفش در مزرعه برداشت انجام گرفت. زیرا در این زمان که طول ساقه‌های جدید یونجه از زمین ۵ سانتی‌متر و از محل طوقه ۲-۳ سانتی‌متر بود، یونجه دارای بیشترین کیفیت علوفه می‌باشد. در سال اول کرت‌ها به‌طور معمولی با کنتور آب کنترل شده آبیاری شد و هیچ تنشی اعمال نشد، زیرا سال اول به عنوان سال استقرار در نظر گرفته شد و یادداشت برداری صفات از سال دوم انجام گرفت. با توجه به اینکه سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ سال استقرار بود، تجزیه واریانس ساده داده‌های سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ انجام شد.

در سال دوم (۱۳۹۶/۱/۱۵) جهت پیشگیری آفت سرخرطومی یونجه با حشره‌کش دیازینون سمپاشی انجام گرفت. اولین آبیاری در تاریخ ۱۳۹۶/۱/۲۰ در تمام واحدهای آزمایشی صورت گرفت. بنا به شرایط آب و هوایی در این سال تا تاریخ ۱۳۹۶/۲/۱۲ آبیاری صورت نگرفت. تا اینکه در تاریخ ۱۳۹۶/۳/۲۸ از هر کرت برای اندازه‌گیری عملکرد علوفه تر پس از حذف خطوط حاشیه و نیم متر ابتدا و انتهای هر کرت، نمونه یک کیلوگرمی از علوفه تر به‌طور تصادفی بعد از برداشت هر چین از هر کرت توزین و بر حسب تن در هکتار در هر چین محاسبه شد (چین اول). در

در تاریخ ۱۳۹۶/۸/۱۰، فعالیت پرولین به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۱۵ نانومتر بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر برگ مشخص شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی، عصاره گیاهی استخراج شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و میزان کلروفیل در مرحله گل دهی و قبل از چین سوم اندازه‌گیری شد. برای استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش چنس و ماهلی (Chance and Maehly, 1955) و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از طریق روش ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) محاسبه گردید. واحد فعالیت به صورت تغییرات جذب در میلی گرم پروتئین بر دقیقه (U/mg protein) بیان شد. با استفاده از عملکرد گیاهان در شرایط آبیاری کامل (Y_p) و تنش کم‌آبی (Y_s) شاخص‌های کمی مقاومت به خشکی به شرح زیر محاسبه گردید. مقدار بالای شاخص شدت تنش (Stress index: SI) و شاخص تحمل به تنش (Stress tolerance index: STI) برای ژنوتیپ نمایانگر تحمل به خشکی بیشتر و عملکرد بالقوه بیشتر آن ژنوتیپ است (Fernandez, 1992). شاخص تحمل به خشکی (Tolerance index: TOL) و شاخص میانگین بهره‌وری (Mean productivity: MP) توسط روسیل و هامبیلین (Rosielle and Hamblin, 1981) معرفی شد. ایشان معتقدند که انتخاب بر مبنای مقادیر کمتر TOL به گزینش ژنوتیپ‌هایی منجر می‌شود که عملکرد آنها در محیط تنش نسبت به محیط نرمال، کاهش کمتری داشته و دارای ثبات عملکرد خواهند بود. از طرف دیگر انتخاب بر مبنای شاخص میانگین محصول‌دهی (MP) به انتخاب ژنوتیپ‌هایی با پتانسیل عملکرد بالا ولی تحمل کم به تنش منجر

می‌شود. شاخص حساسیت به تنش (Stress susceptibility index: SSI) توسط فیشر و مورر (Fischer and Maurer, 1978) پیشنهاد شد. ایشان اظهار داشتند که ژنوتیپ‌های با SSI کمتر بیانگر تغییرات کم عملکرد در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش و پایداری بیشتر ژنوتیپ است. بنابراین انتخاب بر اساس SSI به گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به تنش ولی با پتانسیل عملکرد پایین منجر می‌شود. شاخص دیگری که توسط فرناندز (Fernandez, 1992) ارایه شد، میانگین هندسی محصول‌دهی (Geometric mean productivity: GMP) بود. این شاخص در تفکیک ژنوتیپ‌ها قدرت بیشتری دارد. از شاخص‌های مقاومت دیگر از جمله شاخص خشکی نسبی (Relative drought index: RDI)، شاخص درصد حساسیت به تنش (Stress susceptibility percentage index: SSPI)، میانگین هارمونیک (Harmonic mean: HM)، شاخص حساسیت به خشکی (Sensitivity drought index: SDI)، شاخص عملکرد (Yield index: YI) و شاخص پایداری عملکرد (Yield stability index: YSI) نیز برای مقایسه هر چه بهتر شاخص‌ها و شناسایی ارقام متحمل به تنش استفاده شد.

$$SI = 1 - (Y_s / Y_p)$$

$$STI = (Y_p) (Y_s) / (Y_p)$$

$$TOL = (Y_p - Y_s)$$

$$MP = (Y_s + Y_p) / 2$$

$$SSI = 1 - (Y_s / Y_p) / SI$$

$$GMP = (Y_s) \cdot (Y_p)$$

$$RDI = (Y_s / Y_p) / (\hat{Y}_s / \hat{Y}_p)$$

$$SSPI = [Y_p - Y_s / 2 \hat{Y}_p] \times 100$$

$$HM = 2 (Y_s) \cdot (Y_p) / (Y_s + Y_p)$$

$$SDI = (Y_p - Y_s) / (Y_p)$$

$$YI = (Y_s) / (\hat{Y}_s)$$

$$YSI = (Y_s) / (Y_p)$$

قبل از انجام تجزیه واریانس، فرض‌های

مربوط به آن از جمله آزمون یکنواختی واریانس‌ها،

تعداد ساقه در گیاه، ارتفاع ساقه و همچنین کاهش میزان فتوسنتز، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تثبیت نیتروژن می‌باشد (Pataki et al., 2003).

در این بررسی عملکرد علوفه در اکوتیپ‌های مختلف یونجه، تفاوت معنی داری را نشان داد. بیش‌ترین وزن تر علوفه در شرایط کامل آبیاری با ۸/۴ تن در هکتار در دو اکوتیپ سنتتیک الف و جوشین به دست آمد. بین اکوتیپ‌های مورد بررسی از نظر عملکرد علوفه در شرایط آبیاری کامل، اختلافی ۱/۷ تنی در هکتار وجود داشت (شکل ۱). در حالی‌که در شرایط تنش کم‌آبی به ترتیب اکوتیپ‌های جوشین (۵/۷۶)، سنتتیک ب (۵/۴۵) و سنتتیک الف (۵/۳۳) تن در هکتار بیش‌ترین عملکرد علوفه را داشتند (جدول ۵). قابل ذکر است که میانگین عملکرد علوفه بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه تحت شرایط تنش کم-آبی در مقایسه با شرایط کامل آبیاری، ۲/۵ تن در هکتار کاهش نشان داد.

شوشی دزفولی و همکاران (Shoushi et al., 2022) ژنوتیپ‌های مختلف یونجه را از نظر عملکرد و اجزای عملکرد علوفه تحت تنش خشکی مورد بررسی قرار دادند. این محققین مشاهده نمودند که از نظر عملکرد علوفه بین ژنوتیپ‌های مختلف یونجه در سطوح متفاوت تنش آبیاری اختلاف معنی‌داری وجود داشت. این محققین گزارش نمودند که تحت تنش خشکی بین ژنوتیپ‌های مختلف یونجه از نظر مولفه‌های فتوسنتزی و اجزای عملکرد تفاوت بالایی وجود دارد که این تفاوت در نهایت باعث ایجاد اختلاف در عملکرد علوفه یونجه می‌شود.

نرمال بودن داده‌ها و اثر غیرافزایشی تکرار با تیمار انجام گرفت. سپس تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری صفات مورد نظر با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای محاسبه ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۱ استفاده

نتایج و بحث

عملکرد علوفه تر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تیمارهای رژیم آبیاری و رقم بر صفت عملکرد علوفه تر در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). در چین اول بعد از قطع آبیاری نسبت به آبیاری در شرایط نرمال از نظر عملکرد علوفه تر اختلاف ۳/۸۸ تنی در هکتار وجود داشت (جدول ۴) که نشان دهنده کاهش عملکرد تحت تنش کم‌آبی بود. در شرایط قطع آبیاری بعد از چین اول و دوم از عملکرد علوفه تر به ترتیب به میزان ۲۷/۵۰ و ۲۱/۶۲ درصد کاست. لذا با قطع آبیاری بعد از چین اول کاهش بیشتری در مقایسه با قطع آبیاری بعد از چین دوم صورت گرفت. فاریسی و همکاران (Farissi et al., 2013) گزارش کردند که خشکی موجب افت ۱۶/۳۴ درصدی ماده خشک در ارقام مقاوم کاهش ۶۰ درصدی در ارقام حساس یونجه شد.

پاتاکا و همکاران (Pataki et al., 2003) در آزمایشی ۵ رقم یونجه را در شرایط تنش خشکی و عدم تنش خشکی مقایسه کردند و کاهش عملکرد علوفه را از ۲۳ تن (در مجموع ۵ چین) در تیمار شاهد به ۱۷/۵ تن در هکتار در تیمار تنش خشکی گزارش کردند. کاهش عملکرد علوفه یونجه در تنش‌های کم آبی مربوط به کاهش

خصوصیات فیزیولوژیکی

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثر تنش در صفات محتوای کاروتنوئید و کلروفیل *a* اثر معنی‌داری داشت، ولی اکوتیپ در هیچ یک از این صفات تأثیری نداشت (جدول ۳). مقایسه میانگین صفات نشان داد که از نظر محتوای کلروفیل *a* بین سطح آبیاری کامل با قطع آبیاری بعد از چین دوم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. با این وجود قطع آبیاری بعد از چین اول کاهش معنی‌داری را در محتوای کلروفیل *a* نشان داد (شکل ۳). قطع آبیاری بعد از چین اول به میزان ۱۶ درصد از محتوای کلروفیل *a* کاست. در گزارش‌های مختلفی نشان داده شده است که تنش کم‌آبی میزان کلروفیل *a* و *b* برگ را کاهش می‌دهد و این کاهش به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های کلروفیل‌لاز و پراکسیداز می‌باشد (Zobayed et al., 2005; Hussain et al., 2019). اما از سوی دیگر کم‌آبی باعث افزایش میزان کاروتنوئید در برگ‌های یونجه شد. با توقف آبیاری بعد از چین دوم و اول، بر محتوای کاروتنوئید به ترتیب به میزان ۴/۴۸ و ۷/۷۸ درصد افزوده شد (شکل ۲).

افزایش میزان کاروتنوئیدها تحت تنش خشکی با تحمل به تنش کمبود آب در گیاهان همراه است که در مطالعات متنوعی گزارش شده است (Kadkhodaie et al., 2014). کاروتنوئیدها جزء حیاتی سیستم دفاع غیرآنزیمی علیه تنش اکسیداتیو محسوب می‌شوند که به طور موثری از ماشین فتوسنتزی گیاه (به ویژه کلروفیل) در برابر اثرات مخرب تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Ghobadi et al., 2013).

خصوصیات بیوشیمیایی

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) اثر تنش در صفات فعالیت پرولین و میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز معنی‌دار بود. نتایج بررسی حاضر نشان داد که فعالیت آن‌تی‌اکسیدان‌ها در اثر قطع آبیاری بعد از چین اول افزایش یافت. فعالیت پرولین، میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز با قطع آبیاری بعد از چین اول به ترتیب به میزان ۲/۱۳۹، ۹/۱۸۷ و ۷/۳۵۷ درصد افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد قطع آبیاری در ارقام مورد بررسی بیش‌ترین تأثیرش را روی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز داشت (شکل ۶). گزارش‌های متعددی مبنی بر فعالیت‌های پیچیده کاتالاز تحت تنش کم‌آبی وجود دارد. زیرا، کاتالازها نقش مهمی در تحمل گیاهان نسبت به تنش کم‌آبی دارند (Laxa et al., 2019). تجمع پرولین در مقابله با تنش کمبود آب در مراحل مختلف رشد گیاه به منظور حفظ تورژسانس سلولی و محافظت از ساختارهای سلولی در جهت بهبود رشد گیاهان، توسط پژوهشگران متعددی گزارش شده است (Shirinpour et al., 2020; Sinay et al., 2016). در این بررسی قطع آبیاری بعد از چین دوم تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات آن‌تی‌اکسیدانی نداشت (جدول ۴). آن‌تی‌اکسیدان‌ها مهم‌ترین سیستم دفاعی گیاهان در برابر تنش‌ها هستند. این ترکیبات به ویژه در محافظت از سیستم فتوسنتزی گیاهان نقش مهمی دارند (Shamsi, 2010). در این مطالعه افزایش فعالیت آنزیم‌های آن‌تی‌اکسیدانی و فعالیت پرولین در برگ‌های یونجه در نتیجه افزایش تنش کم‌آبی، بیانگر پتانسیل بالای دفاعی ارقام و اکوتیپ‌های مورد مطالعه در مقابل تنش آبی بود (شکل ۵ و ۶).

افزایش میزان فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در بررسی های سایر محققان نیز گزارش شده است. آنتولین و همکاران (Antolin et al, 2010) نشان دادند که کم آبی میزان پرولین و فعالیت پراکسیداز و کاتالاز را در یونجه افزایش می‌دهد. نتیجه مذکور با نتایج پژوهش‌های انجام شده توسط لی و همکاران (Li et al., 2020) بر برخی ارقام یونجه نیز هماهنگی داشت.

ارزیابی اکوتیپ های یونجه از نظر

شاخص‌های تحمل به خشکی

جدول ۵ مقادیر شاخص‌های حساسیت و تحمل به تنش شدید خشکی، برای صفت عملکرد علوفه را نشان می‌دهد. شدت تنش براساس رابطه فیشر 0.312 برآورد شد. محاسبه شاخص تحمل به تنش (STI) برای اکوتیپ‌ها بیانگر تحمل بالای به ترتیب اکوتیپ سنتتیک الف (0.85)، اکوتیپ جوشین (0.81) و اکوتیپ سنتتیک ب (0.74) بود. این اکوتیپ‌ها ضمن احراز بالاترین مقادیر STI، از نظر میانگین عملکرد در هر دو شرایط آبیاری کامل و کم آبی پرمحصول ترین اکوتیپ‌ها بودند. اکوتیپ آذر و اکوتیپ خواجه نیز براساس این شاخص به عنوان حساس‌ترین اکوتیپ‌ها شناخته شدند. محاسبه شاخص حساسیت به تنش (SSI) نشان داد که اکوتیپ جوشین (0.66) و اکوتیپ سنتتیک ب (0.73) در مقایسه با سایر اکوتیپ‌ها به ترتیب از حساسیت کمتری به تنش کم آبی برخوردار بودند. این اکوتیپ‌ها علاوه بر احراز مقادیر کم SSI، در شرایط تنش در گروه اکوتیپ‌های پرمحصول قرار داشتند، این در حالی است که رقم سنتتیک الف با عملکرد بالا، جزو ارقامی با حساسیت بالا طبقه‌بندی شد (جدول ۵). بررسی میزان تحمل اکوتیپ‌ها با استفاده از شاخص تحمل (TOL) به ترتیب نشان‌دهنده

برتری اکوتیپ جوشین ($15/06$) و اکوتیپ سنتتیک ب ($16/6$) از نظر تحمل به تنش خشکی بود. این اکوتیپ‌ها در شرایط تنش در گروه اکوتیپ‌های پرمحصول قرار داشتند. همچنین اکوتیپ سنتتیک الف ($29/89$) و شاهد محلی ($28/81$) با بیش‌ترین مقدار TOL به عنوان اکوتیپ‌های حساس انتخاب شدند. گزینش اکوتیپ‌ها براساس TOL و SSI با هم مشابهت داشت و می‌توان اظهار داشت که شاخص‌های SSI و TOL در شناسایی اکوتیپ‌های با پتانسیل عملکرد بالا در هر دو شرایط نرمال و تنش کم آبی نسبتاً ناموفق بودند. از نظر شاخص پایداری عملکرد (YSI)، اکوتیپ سنتتیک ب و اکوتیپ جوشین با بیش‌ترین مقادیر به عنوان اکوتیپ‌های متحمل و اکوتیپ آذر و شاهد محلی نیز به عنوان اکوتیپ‌های حساس شناخته شدند. بنابراین، با توجه به یافته‌های فوق شاخص‌های SSI، TOL و YSI در گزینش اکوتیپ‌های با عملکرد بالا در شرایط تنش مشابه هم عمل کردند. براساس شاخص میانگین بهره وری (MP) و شاخص میانگین هندسی عملکرد (GMP)، رقم سنتتیک الف، جوشین و اکوتیپ سنتتیک ب متحمل‌ترین و اکوتیپ آذر و اکوتیپ شاهد به عنوان حساس ترین اکوتیپ‌ها انتخاب شدند. با توجه به این مطلب، شاخص‌های MP، GMP و STI اکوتیپ-هایی را گزینش کردند که در هر دو شرایط شاهد و تنش کم آبی از میانگین عملکرد بالایی برخوردار بودند. محاسبه شاخص‌های میانگین هارمونیک (HM) و شاخص عملکرد (YI) نیز نتایج مشابهی با شاخص‌های MP، GMP و STI نشان داد (جدول ۵). بر اساس شاخص‌های درصد حساسیت به تنش (SSPI) و حساسیت به خشکی (SDI)، اکوتیپ‌های جوشین و سنتتیک ب به عنوان

بنا به نظر ریچاردز (Richards, 1996)، شاخص‌هایی که بیشترین همبستگی را با عملکرد در هر دو شرایط محیطی تنش و بدون تنش را دارند، به عنوان بهترین شاخص‌ها انتخاب می‌شوند. نتایج مشابهی نیز به وسیله اکثر محققان در این خصوص گزارش شده است (Amiri et al., 2014).

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای شاخص‌های

تحميل به تنش خشکی

با انجام تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، دو مؤلفه اول ۹۹/۸۸ درصد از تغییرات مربوط به شاخص‌ها را توجیه نمودند. از این رو ترسیم بای پلات براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم انجام شد (جدول ۷). در این مطالعه ۶۶/۱۶ درصد از تغییرات کل داده‌ها بوسیله اولین مؤلفه تبیین شد که همبستگی مثبت و بالایی را با عملکرد در شرایط تنش (Y_s) و شاخص‌های K_2STI ، YI ، HM ، GMP ، STI ، MP ، DI ، RDI و YSI داشت (جدول ۶). با توجه به مطلوب بودن مقادیر بالای شاخص‌های K_2STI ، HM ، YI ، GMP ، STI ، MP و DI اگر میزان مؤلفه اول بیشتر باشد، اکوتیپ‌هایی انتخاب می‌شوند که پتانسیل عملکرد بالا در هر دو شرایط آزمایشی به ویژه در شرایط تنش داشته و مقادیر MP ، STI ، GMP ، YI ، HM ، K_2STI و DI بالایی داشته باشند. لذا مؤلفه اول را می‌توان به عنوان مؤلفه پایداری عملکرد و تحمل به تنش خشکی نام گذاری کرد. باصفا و طاهریان (Basafa and Taherian, 2010) در ارزیابی اکوتیپ‌های یونجه با استفاده از شاخص‌های تحمل به خشکی گزارش کردند که ۹۹/۸۹ درصد از تغییرات بین داده‌ها به وسیله دو مؤلفه اول تبیین می‌شود به طوری که مؤلفه اول همبستگی مثبت و بالایی با شاخص‌های MP ، GMP ، STI و $HARM$ داشت و لذا به عنوان مؤلفه تحمل به

متحمل‌ترین و اکوتیپ شاهد محلی، آذر و سنتتیک الف، حساس‌ترین اکوتیپ‌ها انتخاب شدند. اکوتیپ‌های جوشین و سنتتیک ب با بیش‌ترین مقادیر شاخص‌های مقاومت به خشکی (DI) و مقاومت به خشکی نسبی (RDI)، متحمل‌ترین و در مقابل اکوتیپ‌های آذر و شاهد محلی با کم‌ترین مقدار این شاخص‌ها به عنوان حساس‌ترین اکوتیپ‌ها شناخته شدند. در کل می‌توان گفت در صورتی با توجه به احتمال بروز یکی از دو شرایط محیطی (تنش رطوبتی و بدون تنش رطوبتی)، ژنوتیپ مناسب بایستی گزینش شود که در این خصوص STI ، K_1STI و K_2STI مطلوب‌ترین شاخص‌ها بودند. مقادیر K_1STI و K_2STI برای اکوتیپ جوشین به ترتیب ۰/۸۲ و ۱/۰۹ و همچنین برای اکوتیپ سنتتیک الف به ترتیب ۱/۱۴ و ۰/۹۹ به دست آمد که بیش‌ترین مقدار در بین ارقام بود. بنابراین چنانچه در منطقه‌ای با توجه به آمار بلندمدت هواشناسی احتمال بروز شرایط نامطلوب و یا تنش کم‌آبی بیشتر باشد، اکوتیپ‌های جوشین و سنتتیک الف قابل توصیه‌تر است.

ضرایب همبستگی بین شاخص‌های تحمل

به خشکی و وزن کل علوفه تر در شرایط شاهد و تنش شدید کم آبی در جدول ۶ نشان داده شده است. شاخص‌های MP ، GMP و STI همبستگی مثبت و بالایی با عملکرد در شرایط بدون تنش (به ترتیب ۰/۸۸، ۰/۸۲ و ۰/۸۳) و عملکرد در شرایط تنش خشکی (به ترتیب ۰/۸۶، ۰/۹۱ و ۰/۹) نشان دادند. همچنین، رابطه مثبت و بسیار معنی‌داری بین شاخص‌های MP ، GMP و STI بدست آمد. بنابراین، این شاخص‌ها را می‌توان به عنوان شاخص‌های مناسب جهت تعیین اکوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی استفاده کرد چرا که

محیطی، بیشترین حساسیت به تنش خشکی را دارا بود. زوایای بین بردارهای شاخص‌ها نشان می‌دهد که شاخص‌های STI، GMP، MP و HM با صفت عملکرد در هر دو شرایط محیطی همبستگی مثبت داشتند و همچنین زاویه تند بین بردارهای این شاخص‌ها نیز نشان‌دهنده همبستگی بسیار بالای آنها با هم بود. شاخص SSI و TOL همبستگی منفی با عملکرد در شرایط تنش و رابطه مثبت با عملکرد در شرایط بدون تنش داشتند که با نتایج همبستگی بین شاخص‌های مقاومت به تنش (جدول ۵ و ۶) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

در شرایط تنش کم‌آبی به غیر از صفت عملکرد علوفه و محتوای کلروفیل a که به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند، فعالیت پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش معنی‌داری را در اکوتیپ‌های مورد مطالعه نشان دادند. با توجه به اینکه اکوتیپ‌های مورد گزینش علاوه بر مقاومت به تنش کم‌آبی بایستی عملکرد بالایی نیز داشته باشند، از این رو در بین اکوتیپ‌های مورد بررسی، اکوتیپ‌های سنتتیک الف و جوشین دارای بیشترین عملکرد علوفه بودند. همچنین، شاخص‌های مقاومت نیز نشان داد که اکوتیپ‌های سنتتیک الف و جوشین دارای پایداری عملکرد بیشتری در شرایط تنش بوده و متحمل به خشکی هستند. اکوتیپ جوشین مطلوب‌ترین اکوتیپ بود.

خشکی نام‌گذاری شد. با توجه به اینکه مقادیر بالای شاخص‌های STI، GMP، MP، YI و HM و مقادیر پایین شاخص‌های SSI، TOL و SSPI مطلوب هستند، لذا اگر مقدار مولفه دوم پایین باشد، اکوتیپ‌هایی انتخاب می‌شوند که دارای MP، GMP و STI بالا و مقادیر SSI و TOL پایین و عملکرد بالا در تنش هستند. اکوتیپ‌های مورد مطالعه در گروه‌های مشخصی قرار گرفتند که مرتبط با میانگین عملکرد و تحمل به تنش آنها بود. با توجه به شکل ۷، اکوتیپ‌های شماره ۲ (اکوتیپ سنتتیک ب) و ۶ (اکوتیپ جوشین) در سمت راست و پایین قرار گرفتند که نشان‌دهنده بیشتر بودن مولفه اول و کم بودن مولفه دوم بود. در نتیجه این دو اکوتیپ در ناحیه با پایداری عملکرد در شرایط تنش و متحمل به خشکی قرار گرفتند که اکوتیپ جوشین مطلوب‌ترین اکوتیپ بود. همچنین اکوتیپ شماره ۱ (رقم سنتتیک الف) در ناحیه بالا و سمت راست نمودار قرار گرفت که نشان‌دهنده پتانسیل عملکرد بالا در شرایط بدون تنش و حساسیت متوسط به خشکی (نیمه متحمل به خشکی) بود. اکوتیپ شماره ۴ (قسمت بالا و سمت چپ نمودار) در ناحیه با عملکرد پایین در شرایط تنش خشکی و حساسیت بالا به خشکی قرار گرفت. اکوتیپ‌های شماره ۳ (اکوتیپ آذر)، ۵ (اکوتیپ خواجه) و ۷ (ساتلو) در ناحیه پایین و سمت چپ نمودار قرار گرفتند که نشان‌دهنده حساسیت بالا به خشکی و پتانسیل عملکرد کم این اکوتیپ‌ها بود. در این میان اکوتیپ آذر با کمترین میزان عملکرد علوفه تر در هر دو شرایط

جدول ۱- ویژگی‌های آب و هوایی ایستگاه خسروشاه در سال زراعی ۱۳۹۵-۹۶

Table 1- Climate characteristics of Khosrowshah station in the crop year 2016-2017

سال Year	ماه‌های سال Months of the year	میانگین دمای حداقل Mean minimum temperature (°C)	میانگین دمای حداکثر Mean maximum temperature (°C)	میانگین کل دما Mean total temperature (°C)	مجموع بارندگی Sum of precipitation (mm)
۱۳۹۵ 2016	فروردین April	15.3	3.7	9.5	57
	اردیبهشت May	21.7	9.2	16.4	21.2
	خرداد June	25.3	15.1	21.6	5.8
	تیر July	34.5	19.6	27.1	0
	مرداد August	38.8	20.1	28.1	.02
	شهریور September	34.2	17.1	25.7	0
	مهر October	22.7	7.6	15.2	10.5
	آبان November	17.5	5.8	11.7	16.6
	آذر December	6.5	-4.3	1.1	26.4
	دی January	9.1	-1	4.1	21.5
	بهمن February	7.8	-2.3	2.8	80
	اسفند March	13.6	2.8	8.2	33
۱۳۹۶ 2017	فروردین April	19.2	5.8	12.5	48.9
	اردیبهشت May	20.4	8.4	14.4	78.3
	خرداد June	28.5	13.6	21.1	27.2
	تیر July	37.4	21.2	29.3	0
	مرداد August	37	21.3	29.2	-
	شهریور September	32.3	17.4	24.8	3.1
	مهر October	26.2	11.6	18.9	5.5
	آبان November	22.8	-0.3	9.5	15.6

داده‌ها از ایستگاه سینوپتیک مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی (خسروشاه) به دست آمده است.

The data was obtained from the synoptic station of East Azerbaijan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center (Khosrowshah).

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی عمق ۰-۳۰ سانتی متر خاک مزرعه

Table 2- Physico-chemical properties of the 0-30 cm soil depth in the experiment

هدایت الکتریکی EC (ds.m ⁻¹)	اسیدیته pH	کربن آلی Organic Carbon (%)	نیتروژن کل N (%)	فسفر قابل جذب P (P.P.M)	پتاسیم قابل جذب K (P.P.M)	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	رطوبت وزنی PWP (%)	FC (%)
2.48	7.5	0.5	0.05	25.7	152	78	14	8	0.100	0.277

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در اکوتیپ های یونجه
Table 3- Analysis of variance (mean squares) of physiological and biochemical traits in alfalfa ecotypes

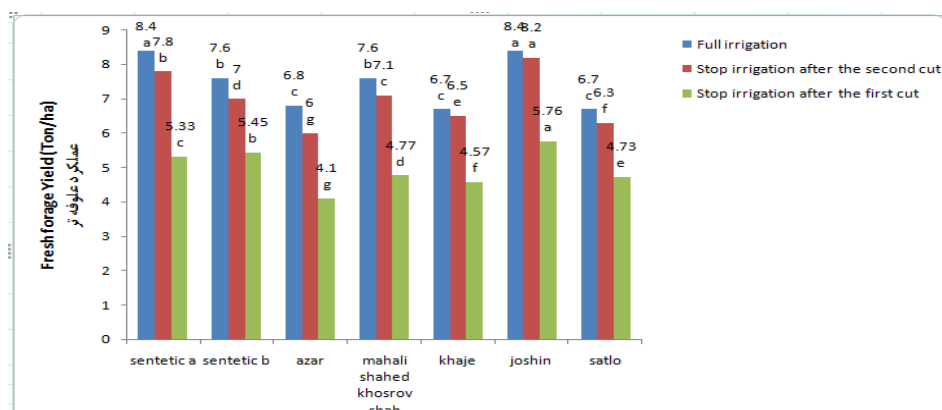
منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی Df	عملکرد علوفه تر Fresh forage yield	کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	پرولین Prolin	پراکسیداز APX	کاتالاز CAT
تکرار Replication	2	869.065	0.001	0.025	0.013	6214.839	3.067	0.052
رژیم های آبیاری (تنش) Irrigation regimes (S)	2	8642.345**	0.344**	0.311**	0.139 ^{ns}	352932.999*	170.406**	3.284**
خطای کرت های اصلی Main plots error	4	509.387	0.018	0.003	0.026	25819.49	1.867	0.104
اکوتیپ Ecotype (E)	6	4237.759*	0.056 ^{ns}	0.053 ^{ns}	0.022 ^{ns}	13211.85 ^{ns}	11.881 ^{ns}	0.087 ^{ns}
تنش*اکوتیپ S * E	12	191.426 ^{ns}	0.023 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.016 ^{ns}	15757.18 ^{ns}	4.178 ^{ns}	0.065 ^{ns}
خطای کرت های فرعی Sub plots error	36	169.879	0.026	0.031	0.013	8650.884	5.935	0.077
ضریب تغییرات C.V. (%)		22.16	34.27	38.92	36.08	14.65	31.81	50.28

غیر معنی دار، * و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال خطای ۵٪ و ۱٪. ns، * and ** no significant differences, significant at the 5 and 1% probability level, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اکوتیپ های یونجه تحت رژیم های آبیاری مختلف
Table 4- Mean comparison of physiological and biochemical traits of alfalfa ecotypes under different irrigation regimes

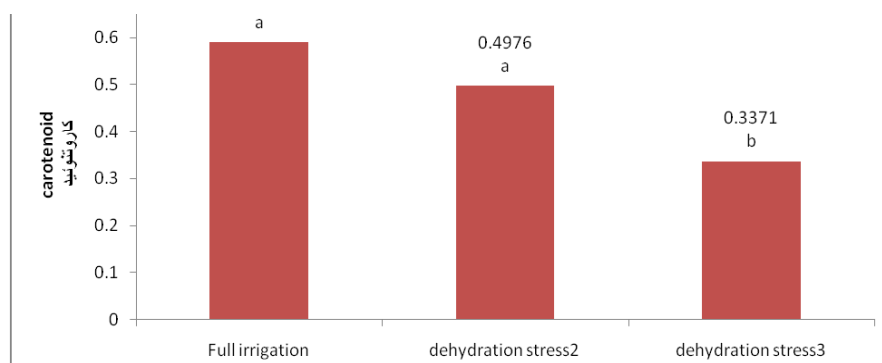
رژیم های آبیاری Irrigation regimes	عملکرد علوفه تر Yield (t.ha ⁻¹)	کاروتنوئید Carotenoid (mg.g ⁻¹)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g ⁻¹)	پرولین Prolin (mg.g ⁻¹)	پراکسیداز APX (U/mg protein)	کاتالاز CAT (U/mg protein)
توقف آبیاری بعد از چین اول Stop irrigation after the first cut	10.23c	0.5900a	0.3243b	784.5a	10.94a	1.005a
توقف آبیاری بعد از چین دوم Stop irrigation after the second cut	11.06b	0.4976a	0.4724a	556.7b	6.176b	0.3633b
آبیاری کامل (تا پایان چین سوم) Full irrigation	14.11a	0.3371b	0.5657a	563.4b	5.857b	0.2833b

در هر ستون میانگین های دارای حرف مشابه در سطح احتمال خطای ۵٪ اختلاف معنی دار آماری با هم ندارند.
 Similar letters within columns indicate insignificant differences according to the Duncan's test (p < 0.05).



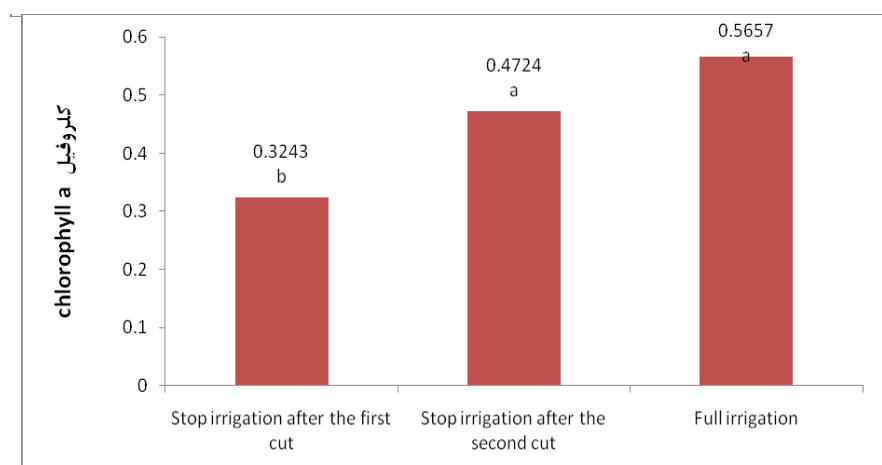
شکل ۱- میانگین عملکرد علوفه تر اکوتیپ‌های یونجه

Figure 1- Average fresh forage yield of alfalfa ecotype



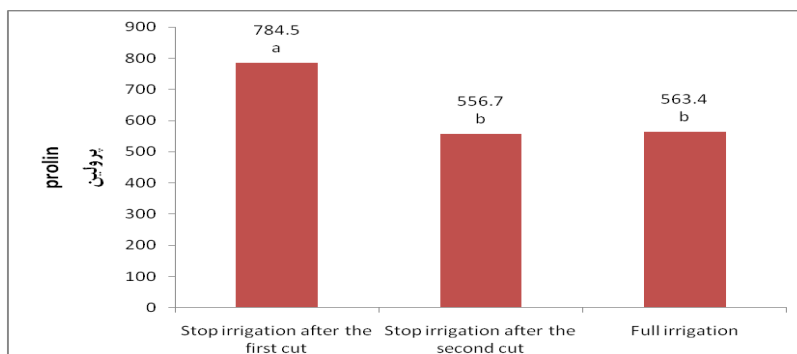
شکل ۲- میانگین کاروتنوئید اکوتیپ‌های یونجه در سطوح مختلف تنش خشکی

Figure 2- Carotenoid average of alfalfa ecotypes at different levels of drought stress



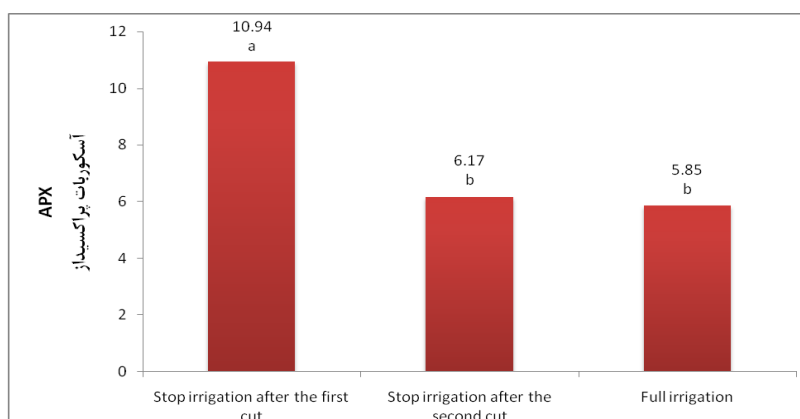
شکل ۳- میانگین کلروفیل a اکوتیپ‌های یونجه در سطوح مختلف تنش خشکی

Figure 3- Chlorophyll a average of alfalfa ecotypes at different levels of drought stress



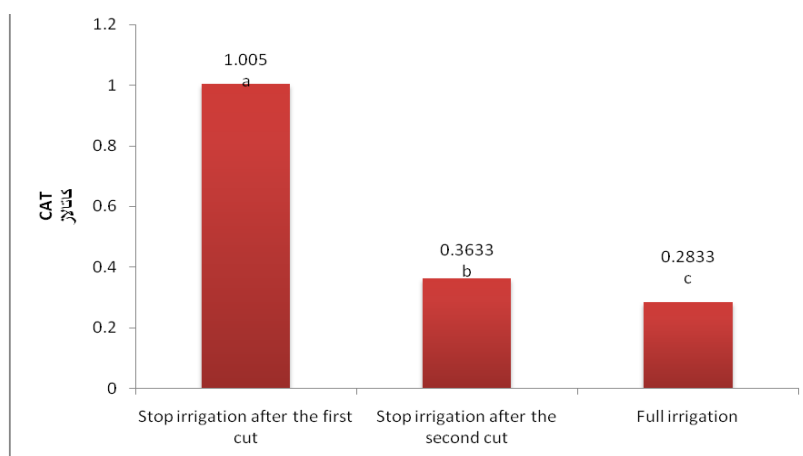
شکل ۴- میانگین پرولین اکوتیپ‌های یونجه در سطوح مختلف تنش خشکی

Figure 4- Prolin average of alfalfa ecotypes at different levels of drought stress



شکل ۵- میانگین آسکوربات پراکسیداز اکوتیپ‌های یونجه در سطوح مختلف تنش خشکی

Figure 5- APX average of alfalfa ecotypes at different levels of drought stress



شکل ۶- میانگین کاتالاز اکوتیپ‌های یونجه در سطوح مختلف تنش خشکی

Figure 6- Catalase average of alfalfa ecotypes at different levels of drought stress

جدول ۵- شاخص‌های تحمل به خشکی در اکوتیپ‌های یونجه در سال ۱۳۹۶

Table 5- Drought tolerance indices in alfalfa ecotypes during the average of 2017 year

اکوتیپ Ecotyp	Y_p	Y_s	STI	MP	GMP	SSI	TOL	RDI
Sentetic A	8.40	5.33	0.89	68.26	66.60	1.15	29.89	0.93
Sentetic B	7.60	5.45	0.74	62.57	62.05	0.73	16.16	1.12
Azar	6.80	4.10	0.52	53.44	51.97	1.21	24.88	0.90
Mahalli shahed khosrov shah	7.60	4.77	0.70	62.15	60.45	1.21	28.81	0.91
Khaje	6.70	4.57	0.60	56.75	55.66	1.04	22.05	0.98
Joshin	8.40	5.76	0.81	65.13	64.69	0.66	15.06	1.15
Satlo	6.70	4.73	0.62	57.64	56.70	0.97	20.69	1.01
Mean میانگین	7.46	4.96	0.69	60.85	59.73	0.1	22.51	1

ادامه جدول ۵-

Table 5- Continued

اکوتیپ Ecotyp	DI	SSPI	HM	SDI	K_1 STI	K_2 STI	YI	YSI
Sentetic A	0.69	20.73	64.98	0.36	1.14	0.99	1.08	0.64
Sentetic B	0.85	11.21	61.53	0.23	0.71	0.89	1.10	0.77
Azar	0.51	17.25	50.54	0.38	0.43	0.36	0.83	0.62
Mahalli shahed khosrov shah	0.60	19.98	58.81	0.38	0.79	0.65	0.96	0.62
Khaje	0.62	15.29	54.60	0.33	0.53	0.51	0.92	0.67
Joshin	0.92	10.44	64.26	0.21	0.82	1.09	1.16	0.79
Satlo	0.66	14.35	55.78	0.30	0.55	0.56	0.95	0.70
Mean میانگین	0.69	15.61	58.64	0.31	0.71	0.72	1	0.69

جدول ۶- ضرایب همبستگی بین عملکرد علوفه تر در شرایط بدون تنش (YP) و عملکرد علوفه تر در شرایط تنش شدید خشکی (YS) و شاخص های تحمل به خشکی

Table 6- Correlation coefficients between fresh forage yield under non-stress (YP) and severe drought stress (YS) conditions and drought tolerance indices

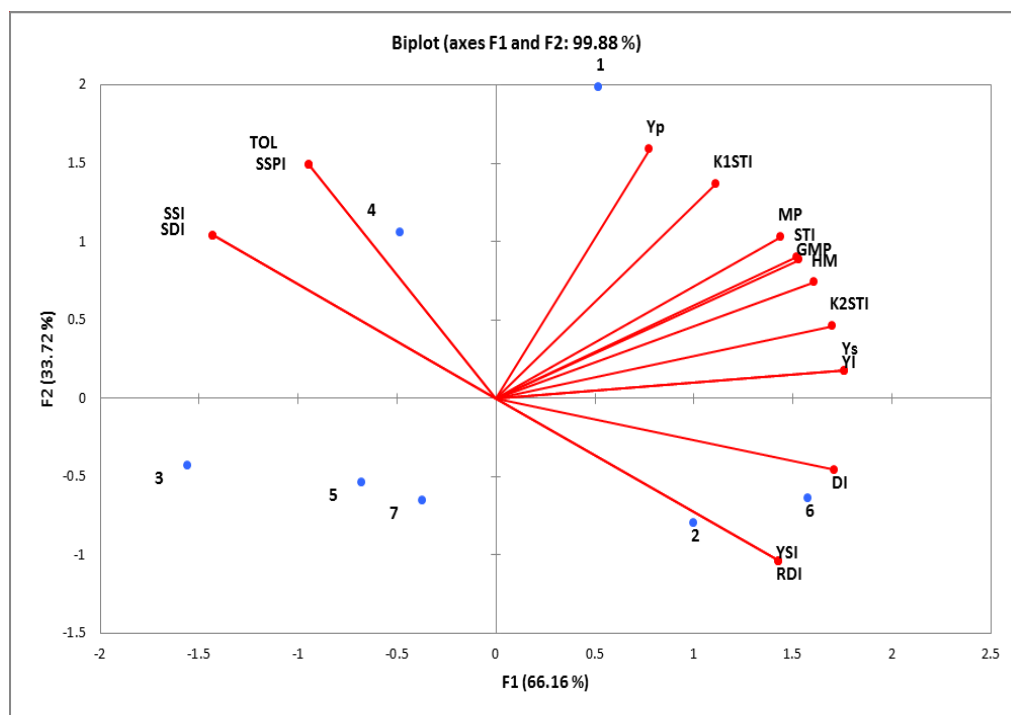
Index	Y _p	Y _s	STI	MP	GMP	SSI	TOL	RDI	DI	SSPI	HM	SDI	K ₁ STI	K ₂ STI	YI	
Y _s	0.526 ^{ns}															
STI	0.835 ^{**}	0.906 ^{**}														
MP	0.88 ^{**}	0.867 ^{**}	0.996 ^{**}													
GMP	0.829 ^{**}	0.911 ^{**}	0.999 ^{**}	0.995 ^{**}												
SSI	0.174 ^{ns}	0.746 [*]	-0.395 ^{ns}	-0.314 ^{ns}	-0.406 ^{ns}											
TOL	0.524 ^{ns}	-0.448 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	-0.057 ^{ns}	-0.041 ^{ns}	0.929 ^{**}										
RDI	-0.174 ^{ns}	0.746 [*]	0.395 ^{ns}	0.314 ^{ns}	0.406 ^{ns}	-0.999 ^{**}	-									
DI	0.19 ^{ns}	0.935 ^{**}	0.698 [*]	0.633 ^{ns}	0.706 ^{ns}	-0.932 ^{**}	0.736 [*]	0.932 ^{**}								
SSPI	0.524 ^{ns}	-0.448 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	0.057 ^{ns}	-0.041 ^{ns}	0.929 ^{**}	0.999 ^{**}	-0.929 ^{**}	-0.736 [*]							
HM	0.774 [*]	0.945 ^{**}	0.994 ^{**}	0.982 ^{**}	0.996 ^{**}	-0.489	-0.133	0.489	0.768 [*]	-0.133						
SDI	0.174 ^{ns}	-0.746 [*]	-0.395 ^{ns}	-0.314 ^{ns}	-0.406 ^{ns}	0.999 ^{**}	0.929 ^{**}	-0.999 ^{**}	-0.932 ^{**}	0.929 ^{**}	-0.489 ^{ns}					
K ₁ STI	0.97 ^{**}	0.703 [*]	0.937 ^{**}	0.961 ^{**}	0.931 ^{**}	-0.054 ^{ns}	0.315 ^{ns}	0.054 ^{ns}	0.407 ^{ns}	0.315 ^{ns}	0.894 ^{**}	-0.054 ^{ns}				
K ₂ STI	0.653 ^{ns}	0.981 ^{**}	0.96 ^{**}	0.93 ^{**}	0.96 ^{**}	-0.622 ^{ns}	-0.296 ^{ns}	0.622 ^{ns}	0.862 ^{**}	-0.296 ^{ns}	0.979 ^{**}	-0.622 ^{ns}	0.81 ^{**}			
YI	0.526 ^{ns}	0.999 ^{**}	0.906 ^{**}	0.867 ^{**}	0.911 ^{**}	-0.746 [*]	-0.448 ^{ns}	0.746 [*]	0.935 ^{**}	-0.448 ^{ns}	0.945 ^{**}	-0.746 [*]	0.703 [*]	0.981 ^{**}		
YSI	-0.174 ^{ns}	0.746 ^{**}	0.395 ^{ns}	0.314 ^{ns}	0.406 ^{ns}	-0.999 ^{**}	-	0.929 ^{**}	0.999 ^{**}	0.932 ^{**}	-	0.489 ^{ns}	0.999 ^{**}	0.053 ^{ns}	0.622 ^{ns}	0.746 [*]

* and **: Non significant, significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۷- مقادیر ویژه و بردارهای ویژه برای ۱۴ شاخص تحمل و حساسیت به تنش در ۷ اکتیپ یونجه

Table 7- Eigenvalues and eigenvectors for 14 tolerance and stress sensitivity indices in 7 alfalfa ecotypes

مؤلفه Amount	مقدار ویژه Special amount	سهم تجمعی Cumulative share	شاخص های تحمل به خشکی Drought tolerance indices														YI	YSI
			Y _p	Y _s	STI	MP	GMP	SSI	TOL	RDI	DI	SSPI	HM	SDI	K ₁ STI	K ₂ STI		
1	10.58	66.16	0.14	0.31	0.26	0.25	0.27	-0.25	-0.17	0.25	0.30	-0.17	0.28	-0.25	0.19	0.30	0.31	0.25
2	5.396	99.88	0.39	0.04	0.2	0.25	0.22	0.25	0.36	-0.25	-0.11	0.36	0.18	0.25	0.33	0.11	0.04	-0.25
3	0.02	99.97	-0.23	-0.10	0.06	-0.19	-0.21	0.12	-0.14	-0.12	0.09	-0.14	-0.22	0.12	0.36	0.75	-0.10	-0.12



شکل ۷- پراکنش اکوتیپ‌های یونجه مورد مطالعه بر اساس دو مولفه اصلی و ناقل مربوط به شاخص‌های تحمل به خشکی

Figure 7- Distribution of studied alfalfa ecotypes based on two main components and vectors related to drought tolerance indices

References

منابع مورد استفاده

- Ahmadi, K., H.R. Ebadzade, F. Hatami, H. Abdshah, and A. Kazemiyan. 2019. The first volume of Crops. Ministry of Agriculture, Planning and Economic Deputy, Information and Communication Technology Center. (In Persian).
- Amiri, R., S. Bahraminejad, Sh. Sasani, and M. Ghobadi. 2014. Genetic evaluation of 80 irrigated bread wheat genotypes for drought tolerance indices. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 20: 101-111.
- Anjum, S.A., U. Ashraf, A. Zohaib, M. Tanveer, M. Naeem, I. Ali, T. Tabassum, and U. Nazir. 2017. Growth and developmental responses of crop plants under drought stress: a review. *Zemdirbyste-Agriculture*. 104: 267-276.
- Antolin, C.A., I. Muro, and M. Sánchez-Díaz. 2010. Application of sewage sludge improves growth, photosynthesis and antioxidant activities of nodulated alfalfa plants under drought conditions. *Environmental and Experimental Botany*. 68:75-82.
- Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*. 23:112-121.
- Basafa, M., and M. Taherian. 2010. Evaluation of drought tolerance in alfalfa (*Medicago sativa*) ecotypes using drought tolerance indices. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 3(1): 69-81. (In Persian).
- Beheshti, A. R. 2016. Evaluation of drought tolerance in Hamedani alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes by tolerance and sensitivity indices. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 9(3): 257-266. (In Persian).
- Chance, B., and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*. 11: 764-755.
- Farissi, M., A. Bouizgaren, M. Faghire, A. Bargaz, and C. Ghoulam. 2013. Agrophysiological and biochemical properties associated with adaptation of *Medicago sativa* populations to water deficit. *Turkish Journal of Botany*. 37: 1166-1175.
- Fernandez, G.C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing stress tolerance. In: Kuo, C.G. (ed) Proceedings of the International Symposium on "Adaptation of vegetables and other food crops in temperature and water stress. AVRDC Publication. Tainan. Taiwan.
- Fischer, R.A., and R. Maurer. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. Part 1: Grain yield response. *Australian Journal of Agricultural Research*. 29: 897-912.
- Ghanizadeh, N., A. Moghaddam, and N. Khodabandeh. 2014. Comparing the yield of alfalfa cultivars in different harvests under limited irrigation condition. *International Journal of Biosciences*. 4: 131-138.
- Ghobadi, M., S. Taherabadi, M.E. Ghobadi, G.R. Mohammadi, and S. Jalali Honarmand. 2013. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. *Industrial Crops and Products Journal*. 50: 29-38.
- Gill, S.S., and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology biochemistry*. 48(12): 909-930.
- Hamd Alla, W.A., B.R. Bakheit, A. Abo- Elwafa, and M.A., El-Nahrawy. 2013.

- Evaluate of some varieties of alfalfa for forage yield and its components under the new valley conditions. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 19(4): 413-418.
- Hesadi, P., D. Fathollah Taleghani, A. Shiranirad, J. Daneshian, and A. Jaliliyan. 2015. Selection for drought tolerance in sugar beet genotypes (*Beta vulgaris* L.). *Biological Forum An International Journal*. 7(1): 1189-1204.
 - Hussain, H.A., S. Men, S. Hussain, Y. Chen, S. Ali, S. Zhang, K. Zhang, Y. Li, Q. Xu, and C. Liao. 2019. Interactive effects of drought and heat stresses on morpho-physiological attributes, yield, nutrient uptake and oxidative status in maize hybrids. *Scientific Reports*. 9(1): 1-12.
 - Kadkhodaie, A., J. Rammjoo, M. Zabedi, and M. Pescarakli. 2014. Selecting sesame genotypes for drought tolerance based on some physiochemical traits. *Agronomy Journal*. 106: 111-118.
 - Khalil, F., S. Rauf, P. Monneveux, S. Anwar, and Z. Iqbal. 2016. Genetic analysis of proline concentration under osmotic stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Breeding Science*. 66: 463-470.
 - Kumar, V., V. Shriram, T.S. Hoque, M.M. Hasan, D.J. Burritt, and M.A. Hossain. 2017. Glycinebetaine-mediated abiotic oxidative-stress tolerance in plants: physiological and biochemical mechanisms. In *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective.*, 111-133 Switzerland: Springer.
 - Laxa, M., M. Liebthal, W. Telman, K. Chibani, and K.J. Dietz. 2019. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*. 8(4): 94-98.
 - Li, S., L. Wan, Z. Nie, and X. Li. 2020. Fractal and topological analyses and antioxidant defense systems of alfalfa (*Medicago sativa* L.) root system under drought and rehydration regimes. *Agronomy*. 10: 805-810.
 - Monirifar, H., and N. Abdollahi. 2014. Introducing some Iranian ecotypes of alfalfa. *Journal of Plant Physiology and Breeding*. 4 (1): 35-45.
 - Monirifar, H., and M. Sadegzade. 2015. Investigation of cold tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes under field conditions. *Journal of Environmental Stresses in Agricultural Sciences*. 7(1): 93-103. (In Persian).
 - Monirifar, H., M. Sadegzade, A. Eimani, N. Zahi, and N. Heirfakhraei. 2022. Introduction of new improved population of alfalfa "Azar" for cold and temperate regions of Azarbaijan. *Scientific journal of Research Findings in Agricultural and Garden Plants*. 10(2): 36-45. (In Persian).
 - Nabi, M.A.G., M. Abd El Mahmud Elsherikh, and H.I. Mohammed. 2013. Computing the crop - water- evapotranspiration production functions for cucumber using drip irrigation. *Global Journal of Medicinal Plant Research*. 1(1): 143-147.
 - Nakano, Y., and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinachchloroplasts. *Plant Cell Physiology*. 22: 867-880.
 - Nekoyanfar, Z., Sh. Lack, and Gh.R. Abadouz. 2017. Assessment effect of cutting time and soil salinity on quality and quantity forage yield of five alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties under Ahvaz conditions. *The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture)*. 40(3): 113-127. (In Persian).
 - Panigrahi, P., and N.N. Sahu. 2013. Evapotranspiration and yield of okra as affected by partial root-zone furrow irrigation. *International Journal of Plant Production*. 7

- (1): 33-38.
- 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. In: Proceeding of the 12th Symposium of the European Grassland Federation, Pleven, Bulgaria. 5: 376-379.
 - Pyngrope, S., K. Bhoomika, and R. Dubey. 2013. Oxidative stress, protein carbonylation, proteolysis and antioxidative defense system as a model for depicting water deficit tolerance in Indica rice seedlings. *Plant Growth Regulation*. 69(2): 149-165.
 - Richards, R.A. 1996. Defining selection criteria to improve yield under drought. *Plant Growth Regulation*. 20: 157-166.
 - Rosielle, A.A., and J. Hamblin. 1981. The oretical aspects of selection for yield in stress and nonstress environment. *Crop Science*. 21: 943-946.
 - Shamsi, K. 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *Journal of Animal and Plant Science*. 8: 1051 - 1060.
 - Shirinpour, M., A. Asghari, S. Aharizad, A. Rasoulzadeh, and S. Khavari Khorasani. 2020. Genetic interaction and inheritance of biochemical traits can predict tolerance of hybrid maize cv. SC704 to drought. *Acta Physiologiae Plantarum*. 42(7): 124.
 - Shoushi Dezfuli, A., M. Khorramian, and A. Assareh. 2022. Effect of drought stress on photosynthetic parameters, yield and yield components of tropical alfalfa genotypes. *Plant Productions*. 44(4): 545-558.
 - Shoushi Dezfuli, A.A., A.R. Paknegad, A. Asareh, and N. Zarifinia. 2017. Evaluation of salinity tolerance of some alfalfa ecotypes usingphysiological and biochemical traits. *Crop Physiology Journal*. 9(35): 105-120. (In Persian).
 - Sinay, H., E.L. Arumingtyas, N. Harijati, and S. Indriyani. 2016. Proline content and yield components of local corn cultivars from Kisar Island, Maluku, Indonesia. *International Journal of Plant Biology*. 6(1): 6071-6076.
 - Snowden, C., G. Ritchie, and T. Thompson. 2013. Water use efficiency and irrigation response of cotton cultivars on subsurface drip in west Texas. *The Journal of Cotton Science*. 17:1–9.
 - Sofo, A., A. Scopa, M. Nuzzaci, and A. Vitti. 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(6): 13561-13578.
 - Szabados, L., and A. Savoure. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*. 15(2): 89-97.
 - Welu, G. 2015. Synthetic varieties: History, development and applications in crop improvement. *Advances in Life Science and Technology*. 32: 23-29.
 - Zlatev, Z. and F.C. Lidon. 2012. An overview on drought induced changes in plant growth, water relationsand photosynthesis. *Emirates Journal of Food Agriculture*. 24: 57-72.
 - Zobayed, S., F. Afreen, and T. Kozai. 2005. Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John's wort. *Plant Physiology Biochemistry*. 43(10-11): 977-984.

Research Article

DOI:

Evaluation of Physiological and Biochemical Traits of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) New Modified Cultivars and Ecotypes under Water Deficit Stress

Parisa Moradian¹, Varahram Rashidi^{2*}, Hasan Monirifar³, and Bahman Paseban Eslam³

Received: November 2022, Revised: 23 April 2023, Accepted: 29 April 2023

Abstract

The experiment was carried out in the form of split plots based on a randomized complete block design with three replications at the East Azerbaijan Research Center located in Khosrow Shah region during two crop years (2015-2016 and 2016-2017). In the main plots, the irrigation factor at three levels included stopping irrigation after the first cut, stopping irrigation after the second cut, and stopping irrigation after the third cut (plots were normally irrigated with a controlled water meter and no stress was applied). The second factor included seven ecotypes of Synthetic A, Synthetic B, Azar, Joshin, Satlo, Khajeh, and Khosroshah Mahalli Shahed, which were considered as sub-plots. Considering that the crop year 2015-2016 was the establishment year, simple variance analysis was done for the data of the crop year 2016-2017. The results showed that the forage yield between the studied ecotypes under severe water shortage stress (stopping irrigation after the furrow) conditions decreased by 2.5 tons per hectare compared to normal irrigation conditions. The highest fresh forage yield in fully irrigated conditions with 8.4 tons per hectare belonged to two synthetic ecotypes, Al and Joshin. While under severe water shortage stress (stopping irrigation after the furrow), Joshin ecotypes (5.76), synthetic B (5.45) and synthetic A (5.33 tons per hectare) had the highest forage yield. Proline (784.5 mg/g FW) and enzymes ascorbate peroxidase (10.94 U/mg protein) and catalase activities (1.005 U/mg protein) showed a significant increase between ecotypes under water deficit stress. The present study showed that the studied ecotypes have favorable characteristics related to tolerance to water deficit stress. MP, GMP, STI, and HM indices were recognized as the most suitable stress tolerance indices, which had the highest correlation with forage yield in non-stress and drought stress conditions. Joshin, synthetic A and synthetic B ecotypes have higher performance stability in terms of the mentioned indicators and can be used in breeding programs to increase tolerance to water shortage.

Key words: Alfalfa, Drought stress, Ecotype, Forage yield, Resistance.

¹ PhD Student, Department of Plant Breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

² Associate Professor, Department of Plant Breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

³ Associate Professor, Horticulture and Crops Research Department, East Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Tabriz, Iran.

*Corresponding Authors: Rashidi.varahram@gmail.com