مقدمه

۱-۱ یونجه

گیاه یونجه (AlfaAlfa) با نام علمی *Medicago sativa* L. مهمترین گیاه علوفه ای در ایران و بسیاری از نقاط جهان است. این گیاه به دلیل بالا بودن ارزش غذایی و امکان کاشت در اقلیمهای مختلف به عنوان ملکه نباتات علوفه ای مشهور است. کاشت یونجه از گذشته دور (بین سالهای ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ قبل از میلاد) در ایران مرسوم بوده و حدود ۵۰۰ سال قبل از میلاد، این گیاه از ایران به یونان برده شده و سپس به سایر نقاط اروپا و جهان راه یافته است. این جنس از خانواده لگومینه یا Fabaceae بوده و در فلورا ایرانیکا تعداد ١٤ گونه از این جنس در منطقه فلات ایران نام برده شده است. یونجه یکی از مهم ترین گیاهان علوفه ای برای حیوانات اهلی است زیرا دارای مقدار زیادی پروتئین، ویتامین های مختلف، انرژی و قابلیت هضم پذیری بالاست . همچنین در مخلوط علوفه یونجه برای حاصلخیزی خاک، اصلاح ظرفیت نگهداری آب و خاک به صورت مالچ و استخراج مواد معدنی و نیتروژن در لایه پایینی استفاده می شود. (کریمی ۱۳۷۵)

ترکیب صفات زیر به همراه سازگاری گسترده به محیط های متنوع یونجه را به عنوان یک محصول منحصر به فرد معرفی نموده است. این صفات عبارتند از: ظرفیت رشد مجدد سریع، توانایی تثبیت بیو لوژیکی نیتروژن، مقاومت به سرما و گرما، کیفیت مناسب علوفه، هضم پذیری بالا، مغذی بودن، قابلیت ذخیره و انبار کردن، قابلیت استفاده به صورت چرای مستقیم، کود سبز، قدرت رقابت با علف های هرز، تکثیر به وسیله بذر، ریزوم، استولون، و پایا و چند ساله بودن.

۱-۱-۱ مشخصات گیاه‌شناسی

یونجه گیاهی چندساله دارای رشدی راست با ریشه‌ای مستقیم است که به رشد اولیه یونجه معروف است. گیاه یونجه علاوه بر ریشه ی اصلی، دارای ریشه های جانبی نیز می باشد که از سلولهای استوانه ای مرکزی ریشه اصلی منشا می گیرد. علت موفقیت این گیاه در مقابله با کلیه عوامل نامساعد محیطی، استفاده از مواد غذایی و رطوبت زیرین خاک وجود همین سیستم ریشه ای است که می تواند در شرایط طولانی خشکی ادامه زندگی گیاه را تضمین کند. یک رابطه همزیستی بین ریشه گیاه یونجه و نژاد باکتری ریزوبیوم تثبیت‌کننده ازت هوا وجود دارد که بعد از گذشت چند هفته از رشد و نمو، این گیاه دیگر نیازی به ازت خاک نخواهد داشت. ریشه عمیق و راست این گیاه را قادر می‌سازد تا از رطوبت قابل جذب اعماق زمین تا عمق ۵ متر و بیشتر استفاده کند که امتیاز با ارزشی در موارد طولانی بودن خشکی است و گیاه را قادر به ادامه زندگی می‌نماید (کریمی، ۱۳۶۹).

الف) ریشه: یونجه علاوه بر ریشه اصلی که راست ومستقیم است ریشه های جانبی نیز دارد که سیستم ریشه ای قوی برای یونجه ایجاد کرده و خود عامل مهمی برای مقاومت گیاه در برابر عوامل نامساعد و نیز جذب مواد غذایی از لایه های پایینی خاک به شمار می رود. همچنین ریشه گیاه اجازه جذب آب از اعماق زمین را داده (تا عمق حدود ۵ متر یا بیشتر) که باعث مقاومت گیاه در برابر خشکی های طولانی مدت می شود. علاوه بر این به علت همزیستی ریشه یونجه با نژادهای باکتری Rhizobium در گره تثبیت کننده نیتروژن در حاصلخیزی خاک نیز بسیار موثر است، به طوری که بعد از مدتی نیازی به کاربرد نیتروژن در مزارع یونجه نخواهد بود. در مزارع یونجه با گذشت زمان بتدریج ساقه های خزنده روی زمین (استولون) و نیز ساقه های خزنده زیر زمین (ریزوم) بوجود می آید (شکل ۱).

ب) ساقه: ساقه اصلی یونجه توپر و از سلول پارانشیمی نسبتاً بلند و فشرده ای پرشده و تقریباً چهار گوش است . ساقه اصلی یونجه انشعابات زیاد و نسبتاً ظریفی دارد. ساقه یونجه در نزدیک سطح خاک، انشعابات زیادی تولید می کند که به مرور زمان ضخیم وچوبی شده و طوقه را به وجود می آورد. با گذشت زمان از طوقه ساقه های کوتاه و منشعب و ضخیم بوجود می آید که ساقه های اصلی و بلند یونجه را بوجود می آورد. بعد از چیدن یا رسیدن یونجه ساقه دیگری از ساقه قبلی از محل طوقه خارج می شود. تعداد ساقه های یونجه از ۵ تا۴۰ عدد متغیر است. ارتفاع ساقه یونجه در ارقام مختلف در هر یک از این چین ها، مناطق

گوناگون و خاک های مختلف متفاوت بوده و از ۶۰-۱۰۰ سانتی متر متغیر است. ساقه هایی که دائماً تولید می شوند راست، نرم و کرک دار بوده و در محل خروج برگ ها انشعابات کوتاهی پیدا می کند (شکل ۱).

ج) برگ‌ها: برگ یونجه مرکب بوده و درمحل انشعابات ظریف ساقه بوجود می آیند. برگچه ها کشیده، طویل و در یک سوم انتهایی دندانه دار هستند. برگچه ها دارای یک رگبرگ اصلی هستند که تا انتهای برگچه کشیده می شود و از این رگبرگ اصلی برگچه (رگبرگچه) رگبرگچه های فرعی منشعب می شوند. برگ مرکب به وسیله دمبرگ به ساقه وصل شده و درمحل اتصال دمبرگ به ساقه دو گوشوارک (stipule) باریک وجود دارد که به دمبرگ متصلند. هر کدام از گوشوارک ها، زائده باریک و بلند در انتها و دندانه های ظریف و کوچک در قاعده دارند. برگچه های یونجه تخم مرغی شکل بوده و در سطح زیری از کرک های فراوانی پوشیده شده است. تراکم کرک ها در سطح رویی برگ کمتر است. برگچه ها سبز تیره هستند. برگچه میانی دارای دمبرگ کوتاهی است در حالی که برگچه های کناری فاقد دمبرگچه بوده و مستقیماً به دمبرگ وصل می شوند (شکل ۱).

د) گل: تغییر حالت گیاه از رشد و نمو رویشی به زایشی با تولید گل های یونجه آغاز می شود. تولید شاخه های گل در بهار از دهمین تا چهاردهمین گره از طوقه یونجه و در فصل تابستان از ششمین تا دهمین گره صورت می گیرد. بعضی از یونجه هایی که در بهار به گل می نشینند ارتفاع ساقه بیشتری دارند و بر عکس در تابستان ارتفاع ساقه کوتاه تری دارا هستند . هنگام تشکیل گل، برآمدگی بافت مریستم در محور برگ بوجود می آید و از هر برآمدگی یک گل آذین بوجود می آید. هر گل یونجه، دارای یک کاسه (با پنج کاسبرگ هم اندازه) و یک جام (با پنج گلبرگ به نام های درفش یک عدد و بال و ناو هر کدام دو عدد)، ده پرچم و یک مادگی است. رنگ گل ارقام مختلف و گونه های جنس *Medicago* ممکن است بنفش، سفید، زرد، و یا رنگارنگ باشد. گل یونجه دارای خصوصیات خاصی است از این رو تعداد محدودی از حشرات در گرده افشانی یونجه مؤثر هستند به خاطر این ویژگی و نیز پلی پلوئیدی بودن یونجه عوامل موثر در گرده افشانی یونجه کمتر اثر دارند (شکل ۱).

در هنگام آزاد شدن اندام های جنسی، کیسه بساک ترکیده و دانه های گرده بفراوانی در روی کلاله مادگی قرار می گیرند. با این حال مشکل عمده در گرده افشانی یونجه غشاء کوتیکولی موجود در روی کلاله است که مانع از ترشح مواد توسط کلاله می شود. این غشاء بعد از آزاد شدن اندام های جنسی از بین می رود و از این طریق امکان باروری ناشی ازگرده افشانی فراهم می گردد.

عمل آزاد شدن اندامهای جنسی از درون ناو را می توان به عواملی مانند فشار وارده از طرف سلولهای مربوط به اندامهای جنسی، فشار مکانیکی وارده توسط حشرات و عوامل محیطی مانند باران، باد و درجه حرارت مربوط دانست .

در گرده افشانی غیر مستقیم یونجه، تعداد گل های تشکیل شده زیادتر و تعداد بذر در هر نیام بیشتر است علت این پدیده به عواملی مانند ۱) خود ناسازگاری نسبی بیشتر بوته های یونجه ۲) اختلاف ادامه حیات تخمک های بارور شده که دارای جنین و آندوسپرم خود گشن شده و هیبرید شده هستند مربوط می شود. گل آذین یونجه بصورت خوشه مرکب است که از محل محور برگ خارج می گردد که دمگلی به اندازه دمبرگ برگ مرکب یا طویل تر از آن دارا می باشد. میوه یونجه نیامی باشکل خاص است. در اثر رشد سریع طرف داخلی نیام، پیچشی در نیام تولید می گردد. نیام دارای چند بذر است. بذور شکل کم و بیش قلوه مانند داشته و برنگ زرد یا قهوه ای روشن دیده می شوند (شکل ۱).

ه) میوه: بذر یونجه درون غلاف، نیام یا پیله که مارپیچی یا حلزونی شکل است و دارای ۲ تا ٤ پیچش است تشکیل می گردد. در طول مدت رسیدن نیام یونجه، بذور داخل آن به هم نزدیک شده و به علت رشد خارجی سه گوش به نظر می رسند. طول و عرض بذور رسیده، به ترتیب ۲/۵ و ۱/۵ میلی متر و ضخامتشان حدودا یک میلی متر است. نیام در گونه های مختلف یونجه به اشکال مختلف می باشد. بذر رسیده یونجه زرد روشن یا سبز زیتونی تا قهوه ای است. به طور کلی بذر یونجه کوچک و ریز است و وزن هزار دانه آن از ۲/۵ تا ۳/۵ گرم متغیر است. در هر گرم وزن یونجه ۳۰۰ تا ٤۰۰ بذر وجود دارد. بذر یونجه دارای دو لپه (Cotylidon)، یک ریشه چه، یک اپی کوتیل، آندوسپرم و پوسته رنگی یا تستا و ناف است. در انتخاب بذرمرغوب و مناسب جهت کشت، سنگینی و خوش فرمی آن از فاکتورهای مهم به شمار می رود. هر چه قدر پوسته بذر سفت، سخت و سالم باشد قدرت انباری بیشتری خواهد داشت. مدت زمان انبارداری به طوری که خصوصیات بذر برای کشت حفظ شود ۱-۲ سال است. به طور کلی هر چه بذر نامناسب و مدت نگهداری در انبار زیاد باشد درصد جوانه زنی بذور یونجه کاهش می یابد. آزمایش ها نشان داده که بذور سالم و مرغوبی که در شرایط مناسب انبار شده اند بعد از چهارسال در صد جوانه زنی شان ۱۰ درصد کاهش یافته است. لذا هنگام کاشت بذور یونجه مخصوصاً در صورت عدم اطمینان از طول عمر بذر و شرایط انبار داری بایستی تست جوانه زنی انجام گیرد (شکل ۱).

ی) گیاهچه: با قرار گرفتن بذریونجه در خاک وجذب رطوبت ریشه راست و مستقیم وبدون انشعاب ازریشه چه بوجود می آید. به موازات پیدایش ریشه اولیه ، محور زیر لپه (هیپوکوتیل) طویل شده و باعث خارج شدن ازخاک می شود. در این زمان گیاه به زیادی وکمبود رطوبت، شوری خاک وسله بستن خیلی حساس است. زمانی که هیپوکوتیل از خاک خارج می شود فقط دارای دو لپه بصورت برگ های متورم است. بعد از مدتی این لپه ها از بین رفته و از مرکز آن اولین برگ با دمبرگ بلند خارج می شود. برگ اولیه ساده و قلبی شکل بوده و شباهتی به برگچه های اصلی یونجه ندارد. با گذشت زمان نخستین برگ مرکب یونجه با سه برگچه به وجود آمده و با ادامه رشد و نمو به تدریج سایر برگ های مرکب ظاهر می شوند (کریمی، ۱۳۷۵).

۱-۱-۲ ارقام یونجه

ارقام یونجه موجود در بازارهای دنیا را بر حسب منطقه جغرافیایی آنها نامگذاری می کنند. برخی از ارقام مختلف یونجه خارجی به نام های یونجه آرژانتین، جنوب افریقا، یونجه پرواس، یونجه بوفالو، یونجه ویلیامس بورگ، یونجه تالنت، یونجه ترکستان، یونجه هارایسان، یونجه اورستان، یونجه گریم، یونجه کوزاک، یونجه کانادایی، یونجه رولاک، یونجه بالتیک، یونجه هاردی، یونجه رنجر، یونجه آتلانتیک و یونجه ناراگامنت. یونجه‌های ایرانی عبارت‌اند از: همدانی، بمی، یزدی، قره یونجه، بغدادی، مهاجرانی، قره یونجه خورونده، هراتی، افغانی، فامنین. رقم های یونجه موجود در ایران بر اساس نام ناحیه ای که در آنجا کشت می شود نامگذاری شده اند که به برخی از آنها در زیر اشاره شده است.

۱) یونجه همدانی: مشخصه بارز این رقم رشد و نمو در مناطق سرد و مقاومت زیاد به سرمای زمستان است. یونجه همدانی نسبت به یونجه رنجر که در گذشته برای کشت در مناطق سرد سیر توصیه می شد مزایای زیادی دارد. یونجه همدانی رشد نسبی داشته و سالیانه بیش از ۵-٤ چین بیشتر تولید نمی نماید.یونجه همدانی دارای ساقه های بلند خشبی با شاخ و برگ نسبتاً کم و ارتفاع بوته ها به طور متوسط تا ۸۵ سانتی متر یونجه همدانی به آب نیاز فراوانی دارد. هر ۱۰-۸ روز بایستی آبیاری شود. حداکثر عملکرد این رقم در زمان ظاهر شدن حدود گل ها است .

۲- یونجه یزدی: مشخصه بارز یونجه یزدی کیفیت و عملکرد بالاست. این رقم خاص مناطق معتدله است که البته می توان در مناطق نسبتاً گرم و خشک نیز کشت نمود. ارتفاع بوته ٦٠-٥٠ سانتی متر ولی دارای شاخ و برگ نسبتاً زیاد و برگ های بزرگتر است. یونجه یزدی سالیانه تا هفت جین تولید مین ماید به همین خاطر به یونجه هفت چینی نیز معروف است.

۳- یونجه بغدادی: یونجه بغدادی مخصوص مناطق گرمسیری است به همین خاطر در نواحی جنوبی ایران و استان خوزستان کشت می شود. از مشخصات بارز مقاومت به گرماست بطوریکه در شرایطی مانند استان خوزستان با گرمای سوزان بدون رکود در سرتاسر سال رشد می کند. یونجه بغدادی ارتفاع بلندی داشته که بیش از ۱ متر نیز می رسد بطور متوسط سالیانه ۱۰ چین تولید می نمایند .

٤- یونجه بمی: یونجه بمی مانند یونجه بغدادی مخصوص مناطق حاره ای یا گرم است. ارتفاع متوسطی ٦٥-٦٠ cm داشته وبرگ های نسبتاً بزرگی دارد. این رقم نیز سالیانه می تواند تا بیش از ۱۰ چین تولید نماید. این رقم نیز مانند رقم یزدی به یونجه هفت چین معروف است .

۱-۱-۳ خواص داروئی یونجه

۱. یونجه دارای بسیاری از مواد معدنی می‌باشد و شیره آن برای بچه‌هایی که در حال رشد هستند و استخوانبندی محکمی ندارند بسیار مفید است امروزه پودر این گیاه را در داروخانه ها می‌فروشند که آنرا می توان برای بچه‌های شیر خوار مصرف کرد.

2. یونجه را بصورت تازه و یا جوانه آنها رابا سالاد می‌توان خورد.

3. یونجه ملین است.

4. یونجه دو برابر اسفناج آهن دارد بنابراین خون ساز است و برای کسانی که به کم خونی مبتلا هستند مفید است.

۵. عوارض کمبود ویتامین «ث» با خوردن یونجه از بین می‌رود.

٦. ضماد پخته یونجه را اگر روزی چند بار روی اعضایی که رعشه دارند بگذارید آنها راشفا می دهد.

۷. دم کرده یونجه درمان اسهال است.

۸. برای نرم کردن سینه و تسکین سرفه روزی ۲–۳ فنجان دم کرده تخم یونجه مصرف می‌شود (زرگری ۱۳۷۱).

شکل ۱-۱: تصویر گیاه ***Medicago sativa***

1-۲ تنش خشکی

رشد و نمو گیاهان تحت تاثیر خصوصیات ژنتیکی و شرایط محیط می‌باشد. عواملی نظیر دما، رطوبت، تشعشع، مواد غذایی و غیره می‌توانند رشد و نمو گیاهان را تحت تاثیر قرار داده و باعث کاهش و یا افزایش عملکرد آنان شوند. یکی از مهمترین تنش‌های محیطی تنش خشکی است و از بین عوامل محیطی تنش‌زا خشکی دومین عامل اصلی کاهش عملکرد بعد از عوامل بیماری‌زا می‌باشد. خشکی مهمترین عامل محدود کننده تولید موفقیت آمیز محصولات گیاهی در سراسر جهان به حساب می‌آید و این عامل هنگامی ایجاد می‌شود که ترکیبی از عوامل فیزیکی و محیطی باعث تنش در گیاه شده و در نتیجه تولید را کاهش می‌دهند. این کاهش در نتیجه تاخیر یا عدم استقرار گیاه ، تضعیف یا از بین رفتن گیاهان استقرار یافته و تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سوخت و ساز گیاهان به وجود می‌آید (McCu and Honson, 1990; Erdi and Matsomato, 1990).

۱-۲-۱ راه‌کارهای مقاومت به خشکی

پاسخ گیاهان به تنش خشکی متفاوت است و گاهی گیاهان با خشکی سازگاری و تطابق می‌یابند. سازگاری به تغیرات مورفولوژیکی یا متابولیسمی اطلاق می‌گردد که بقای گیاه را در محیط افزایش می‌دهد. عملکرد گیاهان در شرایط کمبود آب بستگی به کل آب قابل دسترس و راندمان مصرف آب گیاه دارد. گیاهی که توانایی کسب آب بیشتر یا راندمان مصرف آب بیشتری دارد به تنش خشکی مقاومتر خواهد بود. خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک زیادی در مقاومت به خشکی مؤثر هستند. بستن روزنه‌ها، کاهش سطح برگ، افزایش کارآئی فتوسنتز، کاهش تعرق کوتیکولی، ایجاد کرک روی سطح برگ، توسعه سیستم ریشه و تنظیم پتانسیل اسمزی از این جمله می‌باشند. تحمل به خشکی یک واژه عمومی است که دربرگیرنده دامنه‌ای از مکانیزم‌های مختلف است و به وسیله آنها، گیاهان می‌توانند شرایط خشکی را تحمل کنند (McCu and Honson, 1990; Bates et al., 1973) که می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱-۲-۲ کاهش میزان رشد

خشکی موجب کاهش انعطاف‌پذیری دیواره سلولهای در حال رشد برگ و ساقه و در نتیجه کاهش رشد اندام می‌شود. یکی از اثرات تنش خشکی کاهش میزان سطح برگ است. علاوه بر اینکه سطح برگ در رابطه با فتوسنتز اهمیت دارد، بر آب قابل دسترس گیاه اثر می‌گذارد. کاهش سطح برگ یک واکنش ابتدایی به کمبود آب است که موجب کاهش شدت تعرق و در نتیجه حفظ آب گیاه می‌شود و با کاهش سطح برگ میزان وزن گیاه کاهش می‌یابد (Anjum et al., 2011).

۱-۲-۳ تنظیم اسمزی

یکی از خصوصیات سازگاری که امروزه مورد توجه قرار گرفته است تنظیم اسمزی است که با کاهش مقدار آب نسبی بافت‌ها روی می‌دهد. گیاهان در تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، دما و غیره با ذخیره مواد تنظیم کننده اسمزی با این تنش‌ها مقابله می‌کنند. مواد تنظیم کننده اسمزی بیشتر شامل اسیدهای آمینه، قندها برخی یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها هستند (Qiang et al., 2000). با توجه به اینکه این مواد با متابولیسم سلولی طبیعی در گیاه تداخل ندارند آنها را متابولیت‌های سازگار می‌نامیدند. تجمع اسمولیت‌ها در سیتوزول امکان تعدیل فشار اسمزی را در سلول فراهم می‌آورد که در این شرایط، از تجمع برخی از یون‌ها مثل سدیم در سیتوزول جلوگیری به عمل می‌آید. اسمولیت‌ها همچنین باعث پایداری آنزیم ها در تنش آبی می‌شوند. این محلول‌های آلی گیاهان را از تنش‌های محیطی محافظت می‌کنند. مکانیزم‌های حفاظتی عبارتند از: تطابق اسمزی با کمک حفظ فشار تورگر در گیاه، سم زدایی و تصفیه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] و حفاظت از ساختمان چهارم پروتئین‌ها. به عنوان مثال تجمع مقادیر بالای پرولین در شرایط تنش منجر به افزایش تحمل به تنش اسمزی می‌شود (Chinnusamy et al., 2005).

[1] Reactive oxygene species

۱-۲-٤ تنش اسمزی و مکانیسم‌های پاکسازی ROS

گیاهان در شرایط محیطی نامساعد از قبیل افزایش دما، شدت بالای نور، تنش شوری و خشکی و آلودگی هوا، تولید ROS از قبیل اکسیژن یکتایی[۲] (O°)، سوپراکسید ($O_2^{\circ -}$)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH°) را افزایش می‌دهند. مکانیسم تولید ROS در اثر تنش‌های غیرزیستی کاملاً مشخص نیست. تشکیل ROS با احیاء یونی والنت O_2 آغاز می‌شود. انتقال الکترون‌ها (یک، دو یا سه الکترون) به‌ترتیب منجر به تولید رادیکال‌های $O_2^{\circ -}$، H_2O_2 و OH° می‌شود. به‌طور خلاصه خشکی سبب کاهش آب و بسته شدن روزنه‌ها توسط ABA در برگ‌ها، دست‌یابی محدود به CO_2، احیاء زیاد زنجیره انتقال الکترون و در نهایت تولید ROS می‌شود. این شرایط تنش فتواکسیداتیو نامیده می‌شود که در پاسخ‌های گیاه به سایر تنش‌ها مانند پاسخ به تنش خشکی، دما و تنش نوری نیز مشاهده می‌شود.

تنش اسمزی ناشی از خشکی زیاد ممکن است سبب ایجاد تنش‌های ثانویه در گیاهان شود. مطالعات نشان داده است که تنش‌های محیطی از قبیل UV[۳]، گرما، سرما، شوری، خشکی و غیره منجر به تولید ROS و تنش اکسیداتیو می‌شوند. در گیاهان اندامکهایی از جمله کلروپلاست، میتوکندری و میکروبادیها در طی فرایندهای متابولیکی وابسته به انتقال الکترون نظیر تنفس، فتوسنتز و تثبیت نیتروژن منابع عمده ای از تولید ROS هستند. ROS مولکول‌های حاوی اکسیژن هستند که به عنوان مثال می‌توان رادیکال‌های هیدروکسیل (OH°)، پراکسید و آنیون سوپراکسید ($O2^{-\circ}$) را نام برد. آنها به دلیل وجود الکترون‌های تک ظرفیتی بسیار فعال و سمی هستند و می‌توانند منجر به تنش اکسیداتیو و مرگ سلول شوند. ROS دارای اثرات تخریبی بر روی ساختارهای سلولی و ماکرومولکول‌ها از قبیل لیپیدها، آنزیم‌ها و DNA می‌باشد. سم زدایی این ترکیبات سبب تحمل به تنش خشکی و یا سایر تنش‌ها می‌شود.

راه‌های مختلفی برای کنترل ROS در موجودات زنده وجود دارد که به عنوان مثال استفاده از ROS برای تنظیم فرآیندهای بیولوژیکی مانند رشد، چرخه سلولی و سیگنال‌دهی هورمون‌ها (Neill et al., 2002) و یا تبدیل آنها به اشکال غیر رادیکالی توسط سیستم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی را می‌توان نام برد. این سیستم‌ها شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز،

---

[2] Singlet
[3] Ultraviolent

پراکسیدازها و آنزیم‌های مسیر گلوتاتیون-آسکوربات است که شامل آسکوربات پراکسیداز، دهیدروآسکوربات ردوکتاز، مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز و گلوتاتیون ردوکتاز است (Dalton, et al., 1986, 1992; Noctor and Foyer, 1998; Becana, et al., 2000). در سیستم غیر آنزیمی بافرهای ردوکس سلولی از قبیل آسکوربات و گلوتاتیون به علاوه فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها آنتی‌اکسیدانت‌های عمده سلولی هستند.

۱-۲-۵ استفاده از تنظیم کننده‌های رشد برای کاهش اثرات تنش خشکی

تنش خشکی سبب کاهش محتوی آب نسبی گیاه و کاهش عملکرد گیاه می‌شود. ایران در کمربند بیابانی جهان قرار دارد و به عنوان منطقه ای خشک منظور می‌شود. متوسط بارندگی در کشور حدود ۲۵۰ میلی‌متر است که این میزان یک سوم بارندگی در جهان می‌باشد. با توجه به اینکه خشکی از ویژگی‌های بارز جغرافیایی کشور ایران است و از این پدیده طبیعی و غیرقابل تغییر راه فراری نیست و از طرفی مصرف منابع انرژی، آب و مواد غذایی به طور روز افزونی در جامعه افزایش می‌یابد، لذا بایستی به چاره اندیشی بپردازیم.

با توجه به اینکه مهندسی ژنتیک یک فرآیند طولانی مدت است لذا جهت پر کردن فاصله زمانی بین یافته‌های کنونی و پیشرفت‌های آینده نیاز به یک راه‌حل جدید احساس می‌شود. مطالعات کمی بر روی تنظیم کننده‌های رشد جهت رفع مشکل تنش‌های محیطی صورت گرفته است. معمولاً گیاهان مقاوم نسبت به گیاهان حساس رشد آهسته‌تری دارند، بنابراین به نظر می‌رسد تنظیم کننده‌های رشد سبب القای مکانیسم‌هایی شوند که گیاهان حساس بتوانند الگوهای رفتاری گیاهان مقاوم را جهت رفع تنش‌های محیطی در پیش گیرند. امروزه بازدارنده‌های سنتز هورمون جیبرلین به طور وسیعی کاربرد دارند که عبارتند از: پاکلوبوترازول[۴]، یونی‌کونازول[۵]، آنسی‌میدول[۶]، کلورمکوات‌کلراید[۷] و دامینازول[۸] (Abou et al., 1997). در این تحقیق اثر پاکلوبوترازول بر روی تنش خشکی در گیاه استویا را بررسی نمودیم.

---

[4] Paclobutrazol
[5] Uniconazol
[6] Ancymidol
[7] Clormequatt chloride
[8] Daminosol

۱-۳ پاکلوبوترازول

ماده تنظیم کننده رشد پاکلوبوترازول در سال ۱۹۷٦ کشف شد و از بازدارنده‌های سنتز هورمون جیبرلین و جزء گروه تریازول‌ها می‌باشد. حلالیت پاکلوبوترازول در آب پایین است (حدود ۳۵ میلی‌گرم در لیتر در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد) و به دو فرم کریستال سفید و محلول در بازار وجود دارد. نیمه عمر پاکلوبوترازول با توجه به نوع خاک و شرایط محیطی حدود ۲۰۰ روز تا یک سال مشخص شده و سمیت آن برای انسان LD_{50}=۱۳۳۰[9] میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن است (Fletcher and Gilley, 2000).

پاکلوبوترازول یک نمونه بسیار فعال و پرکاربرد از تریازول‌ها است. امروزه پاکلوبوترازول استفاده‌های تجاری متعددی در سطح دنیا دارد. این ماده علاوه بر مطرح بودن به عنوان یک کند کننده رشد گیاهی به عنوان یکی از مهمترین تیمارهای گل‌انگیزی و افزایش درصد تبدیل گل به میوه مطرح است(Gonzalez et al., 2004). این ماده به عنوان مقاوم کننده گیاه در برابر تنش‌های محیطی نیز شناخته شده است(Abou et al., 1997). پاکلوبوترازول علاوه بر اثری که در جلوگیری از رشد شاخه دارد، می‌تواند رشد رویشی از قبیل رشد ریشه و گسترش برگ‌ها را نیز کاهش دهد و در مقابل رشد میوه را تحریک کند (Steffen and Waog, 1984).

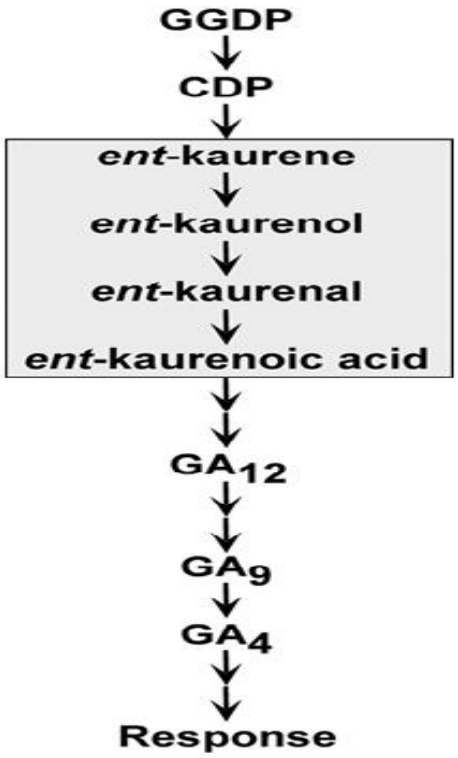
۱-۳-۱ مکانیسم عمل پاکلوبوترازول

در گیاهان ترکیبات تریازولی از جمله پاکلوبوترازول، با دخالت در مسیر بیوسنتز اسید جیبرلیک در مرحله اکسیداسیون انت- کائورن به انت-کائورونیک اسید از تولید این هورمون گیاهی ممانعت می‌کنند. در نتیجه اثر نهایی تریازول‌ها ناشی از به هم خوردن تعادل پویایی است که بین هورمون‌های گیاهی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاهی وجود دارد. تریازول‌ها با مهار انت-کائورن اکسیداز در سه مرحله از مسیر اکسیداسیون اِنت‌ـکائورن از تشکیل انت-کائورنول[10]، انت-کائورنال[11] و نهایتا انت-

[9] Lethal dose
[10] Ent-kaurenol
[11] Ent-kaurenal

کائورونیک اسید جلوگیری می‌کنند، در صورتی که بقیه مسیر بیوسنتز جیبریک اسید، دست نخورده باقی می‌ماند (Fletcher and Hofstra, 1988) (شکل ۱-۲).

انت-کائورن اکسیداز یک آنزیم هیدروکسیلاز وابسته به سیتوکروم P_{450} محسوب می‌شود. مجموعه‌ای از ایزوفرم‌های مختلف این آنزیم از بیوسنتز GA[12] و تجزیه ABA[13] جلوگیری می‌کند. پس از استفاده از تریازول‌ها سطح GA در گیاه پایین می‌آید (Fletcher and Hofstra, 1988).



شکل ۱-۲: اثر ممانعت کنندگی پاکلوبوترازول بر مسیر بیوسنتز جیبرلین در مرحله تبدیل ent-kaurene به ent-kaurenoic acid.

CDP: **copalyl pyrophosphate synthase**، **GA**: **gibberellic acid**، **GGDP**: **geranylgeranyl diphosphate**.

[12] Gibberellic acid
[13] Abscisic acid

اعتقاد بر این است که در اولین پاسخ‌ها نسبت به تنش خشکی، علامت‌هایی که به وسیله ریشه‌ها ایجاد می‌شود بسیار مؤثرند. علاوه بر آبسیزیک اسید، سیتوکینین‌ها هم در زمان تنش خشکی می‌توانند به عنوان یک رابط بین ریشه و اندام‌های هوایی عمل کنند، به طوری که با کاهش سیتوکینین روزنه‌ها بسته می‌شوند (Bano et al., 1993). مطالعات گذشته مشخص می‌کند که سیتوکینین‌ها یا سایر موادی که فعالیت سیتوکینینی دارند، باعث افزایش سنتز کلروفیل و تأخیر در وقوع پیری می‌شوند. در نتیجه می‌توان بیان نمود که این اثرات و سایر اثرات مشابهی که به وسیله تریازول‌ها در گیاه ایجاد می‌شود ناشی از میزان سنتز سیتوکینین پس از تیمار تریازول‌ها یا تجزیه آن باشد (Fletcher and Hofstra, 1988). تیمار پاکلوبوترازول توام با تنش خشکی در مقایسه با زمانی که تیمار پاکلوبوترازول به تنهایی اعمال شده است، غلظت سیتوکینین‌ها را افزایش داد که این امر ممکن است به خاطر کاهش اکسیداسیون سیتوکینین در نتیجه استفاده از پاکلوبوترازول باشد، زیرا همان‌طور که گفته شد، پاکلوبوترازول باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شود (Zhu et al., 2004).

۱-٤ اهدافی که در این تحقیق دنبال می‌شوند عبارتند از:

یونجه یک گونه زراعی است که به عنوان یک زراعت اصلی برای تولید علوفه کشت و کار می‌شود و افزایش مقاومت یونجه به تنش خشکی امکان رشد این محصول را در این مناطق فراهم می‌کند. علیرغم مطالعات نسبتا گسترده‌ای که توسط محققین مختلف در زمینه افزایش مقاومت به خشکی گیاهان صورت گرفته است. مطالعات کمی بر روی تنظیم کننده‌های رشد جهت رفع مشکل تنش خشکی صورت گرفته است. در این مطالعه سعی بر آن است که اثر پاکلوبوترازول به عنوان ترکیبی که دارای خصوصیات تنظیم کننده رشد نیز می‌باشدبر روی تحمل به شوری گیاه یونجه بررسی گردد.

با توجه به اینکه گیاهان از نظر درجه مقاومت به شوری بسیار متفاوتند و تحمل به شوری به نوع گونه گیاهی، مرحله رشدی، غلظت مورد استفاده و مدت زمان تیمار بستگی دارد.

بنابراین اهدافی که در این مطالعه مد نظر می باشد عبارتند از:

۱- بررسی دامنه تحمل به خشکی گیاه یونجه

۲- بررسی اثر پاکلوبوترازول بر برخی از پارامترهای فیزیولوژی و بیوشیمیایی در گیاه یونجه

۳- درک بهتر مکانیسم مقاومت به خشکی در گیاه یونجه در حضور تنظیم کننده رشد پاکلوبوترازول

مواد و روش ها

2ـ۱ تهیه نمونه

بذر گونه زراعی یونجه (*Medicago sativa*)، ارقام همدانی، یزدی، اصفهانی، بمی، بغدادی و قره یونجه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید.

۲ـ۱ـ۱ کشت در ظروف پتری دیش

ابتدا بذرهای سالم، با اندازه‌های تقریباً یکسان و عاری از آسیب یا بیماری جدا شدند. جهت کشت بذر و همچنین کلیهٔ عملیات انجام شده در مورد انتقال نمونه گیاهی، و به منظور استریل بودن محیط کشت و عاری بودن از آلودگی، از دستگاه لامینار ایرفلو[۱۴] افقی استفاده گردید. قبل از شروع کار سطح دستگاه توسط الکل ۷۰٪ تمیز و پس از انتقال وسایل مورد نیاز از جمله ظروف و همچنین وسایلی چون پنس، اسکالپل و غیره به دستگاه، درب ایروفلو را بسته و لامپ UV به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه برای اطمینان از ضدعفونی شدن فضای داخل دستگاه و محیط کار روشن گردید. به هنگام کار برای استریل کردن پنس و دیگر وسایل از اتانول ۹۶٪ و حرارت شعله استفاده گردید.

[14] *Laminar flow cabinet*

ابتدا بذرها را چند بار با آب معمولی شسته تا مواد زاید آن جدا شود. سپس بذرها به محلول الکل ۷۰ ٪ منتقل گردید و حدود ۳۰ ثانیه در آن محلول باقی ماند. پس از آن بذرها از الکل به محلول ۲۰٪ حجمی وایتکس (هیپوکلریت سدیم) منتقل شده و به مدت ۱۵ دقیقه در آن محلول قرار گرفتند بعد از آن در زیر دستگاه لامینا رایر فلو ۳ بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. پس از ضدعفونی کردن بذرها و شستشو با آب مقطر ۲۵ عدد بذر در هر ظرف پتری دارای کاغذ صافی قرار داده شد. به پتری‌ها ۱۰ میلی لیتر از محلول های پلی اتیلن گلیکول مورد نظر در غلظت‌های صفر (به عنوان شاهد)، ۳٪، ٦٪ و ۹٪ و پاکلوبوترازول در غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر (نتایج نشان داده نشده است) اضافه شد. برای هر رقم و هر تیمار ٤ عدد پتری دیش جهت کاشت ۱۰۰ بذر در نظر گرفته شد. سپس ظروف توسط پارافیلم پوشیده شدند. سپس نمونه‌های بذر آماده شده در این مرحله در اتاق کشت با دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و نور ۹۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ نگهداری شدند. بذرها در اتاق کشت جوانه زده و رشد نمودند پس از کاشت بذرها، ظروف پتری دیش به مدت یک هفته در اتاق کشت قرار داده شدند. روزهای اول، دوم، سوم و هفتم تعداد بذرهای جوانه زده شمارش شدند و سرعت، میزان، متوسط زمان و درصد جوانه زنی با توجه به فرمول‌های زیر محاسبه شد. در گیاهچه‌های ۷ روزه طول گیاهچه، وزن تر و خشک اندازه‌گیری شد.

میزان جوانه زنی = $(N_1/ T1) + ((N2 – N1)/ T2) + ((N3 – N2)/ T3)$ (AOSA, 1983)

N2 ,N1 و N3 به ترتیب تعداد بذرهای جوانه زده در روزهای دوم (T1)، چهارم (T2) و هفتم (T3) است.

درصد جوانه زنی = (تعداد کل بذرها / تعداد بذرهای جوانه زده) ×۱۰۰ (%) (Cokkizgin and Cokkizgin, 2010)

متوسط زمان جوانه زنی = $\Sigma(D\times N)/ \Sigma N$ (Ellis and Roberts, 1981)

N= تعداد بذرهایی که در روز D ام جوانه زدند.

D= تعداد روزهایی که از آغاز زمان جوانه زنی گذشته است.

سرعت جوانه زنی بذرها با استفاده از روش ماگوئر (Maguire) محاسبه شد که در آن Ni تعداد بذرهای جوانه زده در هر روز و Ti تعداد روزهای پس از کاشت به دست آمد (سووهانی ۱۳۷۵).

سرعت جوانه زنی = Ni/Ti (%)

۲ـ۱ـ۲ انتخاب نمونه برای کاشت گلدانی

پس از بررسی نتایج حاصل از آنالیز اولیه غلظت های ۵٪ پلی اتیلن گلیکول و ۱۰ میلی گرم بر لیتر پاکلوبوترازول انتخاب شدند و سایر کشت ها و بررسی‌ها بر روی این غلظت ها صورت گرفت.

۲ـ۱ـ۳ کاشت گلدانی

برای کشت گیاه در گلدان از بستر کاشت پرلیت استفاده شد. بذرهای حتی الامکان هم اندازه، سالم و عاری از آسیب یا بیماری مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور جلوگیری از آلودگی قارچی، بذرها قبل از کاشت توسط قارچ کش ***vitavax*** به نسبت ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم بذر ضدعفونی شدند.

کشت بذرها در گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه تقریبی ۳۰ سانتیمتر حاوی پرلیت در گلخانه با شرایط کنترل شده (جدول ۲ـ۱) انجام گرفت. تعداد ۲۰ عدد بذر در هر گلدان کاشت شد. گلدان‌ها با آب مقطر آبیاری شدند تا شرایط جوانه‌زنی بذرها فراهم شود. پس از جوانه‌زنی بذرها، گلدان‌ها بر حسب نیاز توسط محلول غذایی هوگلند (۱) رقیق شده به نسبت ۱ به ٤ آبیاری شدند. پس از جوانه‌زنی گلدان‌ها به ۱۰ گیاه دارای ظاهر تقریباً یکسان تنک شدند. در این مرحله گلدان ها با محلول ۱۰ میلی گرم بر لیتر پاکلوبوترازول اسپری شدند. این تیمار به مدت یک هفته و هر هفته سه مرتبه ادامه یافت. ۲ روز پس از اولین تیمار پاکلوبوترازول گیاهان با غلظت‌های صفر (آب مقطر) و ۵٪ پلی اتیلن آبیاری شدند. تیمار پلی اتیلن گلیکول به مدت سه هفته به طول انجامید. بدین ترتیب گیاهان پس از یک ماه برداشت شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

۲ـ۲ اندازه‌گیری وزن تر و خشک

برای اندازه‌گیری وزن تر اندام‌های موردنظر هر کدام به طور جداگانه بلافاصله پس از برداشت توسط ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم توزین شدند. نمونه‌ها به مدت ٤٨ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد خشک شدند و مجدداً توسط ترازو توزین شدند و سپس وزن خشک بر اساس درصد وزن خشک محاسبه گردید.

۲ـ3 محتوی نسبی آب گیاه

محتوی آب گیاه با توجه به فرمول زیر محاسبه شد:

$$RWC = \frac{(FW-DW)}{DW}$$

RWC= محتوی آب گیاه موردنظر

Fw= وزن تر کل گیاه موردنظر

Dw= وزن خشک کل گیاه موردنظر

۲-4 سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئیدها)

صد میلی‌گرم از بافت برگ وزن گردید و سپس با استفاده از ۵ میلی لیتر استون ۸۰٪ در محیطی تاریک درون هاون چینی هموژنایز گردید تا در نهایت محلولی همگن و یک‌دست به‌دست آمد. سپس عصاره حاصل توسط قیف و کاغذ صافی واتمن شماره ۱ درون بالن ژوژه ۱۰ میلی لیتر صاف گردید و حجم محلول به کمک استون ۸۰٪ به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد، به‌دلیل فرار بودن استون درب بالن ژوژه‌ها را به خوبی بسته تا از کاهش حجم محلول جلوگیری به‌عمل آید. سپس جذب محلول‌های به‌دست آمده به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ٦٦٣ ، ٦٤٥ و ٤٧٠ نانومتراندازه گیری گردید. میزان کلروفیل a, b, total و کارتنوئید طبق فرمول (۲-۱) بر حسب mg/g FW محاسبه گردید (Arnon, 1949).

Chl a (mg/g) = [12.7 (D663) - 2.69 (D645)] × V/1000 × W

Chl b (mg/g) = [22.9 (D645) - 4.68 (D663)] × V/1000 × W

Total Chl a+b (mg/g) = [20.2 (D645) + 8.02 (D663)] × V/1000 × W

Carotenoid = [1000 (D470) - 1.8 (Chla) - 85.02 (Chlb)] / 198

D= میزان جذب نوری عصاره

V= حجم نهایی عصاره

W= وزن بافت

در این فرمول *Chl a*, *Chl b*, *Chl T*, *C x+c* به ترتیب غلظت کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گزانتوفیل‌ها) می‌باشد. غلظت‌های به دست آمده برحسب میلی گرم در گرم وزن تر است (٦٢).

۲-۵ استخراج و سنجش آنتوسیانین

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین از روش Wanger (1979) استفاده گردید. صد میلی‌گرم از بافت برگ وزن گردید و سپس با استفاده از ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی در درون هاون چینی هموژنایز گردید تا در نهایت محلولی همگن و یکنواخت به‌دست آمد. آنگاه عصاره حاصل به مدت ٢٤ ساعت در تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ٤٠٠٠ rpm سانتریفوژ گردید و جذب محلول رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. غلظت آنتوسیانین در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1}\ Cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ و فرمول (۲-۲) محاسبه گردید.

$$A=\varepsilon bc$$

A= میزان جذب خوانده شده

ε= ضریب خاموشی

b= عرض کووت (۱ سانتی‌متر)

c= غلظت برحسب میلی مول

۲-٦ استخراج و سنجش آلفا توکوفرول

برای اندازه‌گیری آلفا توکوفرول از روش Backer و همکاران (۱۹۸۰) استفاده گردید. در این روش ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ گیاهان به تعداد ۳ تکرار در هر غلظت وزن گردید. هر نمونه با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی به‌خوبی ساییده شد تا به‌طورکامل هموژنایز گردید. عصاره‌های حاصل درون سانتریفوژ تیوب ها منتقل و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱٤۰۰۰ rpm سانتریفوژ شدند. متانول اسیدی از ترکیب ۹۹ میلی لیتر متانول و ۱ میلی لیتر اسید کلریدریک حاصل گردید. در مرحله‌ی بعدی از هر تیوب ۱ میلی لیتر محلول روشناور برداشته و داخل لوله‌های آزمایشی ۱۰ میلی لیتر منتقل گردید. سپس ۰/۲ میلی لیتر بی پیریدیل ۲٪ حل شده در اتانول ۷۰٪ به هر لوله اضافه شد. درب هر لوله با فویل آلومینیومی‌محکم بسته و لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند. سپس ٤ میلی لیتر آب مقطر به هر لوله می افزاییم و کاملا مخلوط می نماییم. سپس جذب هر نمونه در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از آلفا توکوفرول خالص استفاده شد و تمام مراحل کار روی آن انجام گردید. سپس منحنی استاندارد آلفا توکوفرول رسم و مقدار آن با کمک این نمودار و بر اساس یک گرم بافت گیاهی بدست آمد.

2-۷ استخراج و سنجش ترکیبات فنلی

استخراج ترکیبات فنلی از قطعات برگ گیاهان تحت تیمار انجام گرفت (Singleton and Rossi, 1965). میزان ۰/۲ گرم از برگ به تعداد ۳ تکرار در هر تیمار توزین شد و درون هاون چینی توسط ۱۰ میلی لیتر اتانول مطلق ساییده شدند تا به‌طور کامل یکنواخت شدند و سپس نمونه ها ورتکس شدند. نمونه ها به مدت ۲٤ ساعت در یک مکان تاریک و در دمای آزمایشگاه

نگهداری شدند. سپس عصاره‌های حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند. از محلول روشناور جهت اندازه‌گیری میزان فنل استفاده شد. مقدار ۰,۵ میلی لیتر عصاره با ۰,۵ میلی لیتر اتانول، ۱,۵ میلی لیتر آب مقطر، ۲۵۰ میکرولیتر فولین ۵۰٪ و ۰,۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۵٪ مخلوط شد و نمونه ها ورتکس شدند. نمونه ها به مدت ۱ ساعت در دمای آزمایشگاه و در تاریکی نگهداری شدند و سپس جذب نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک خالص استفاده شد و تمام مراحل کار روی آن انجام گردید. سپس منحنی استاندارد فنل رسم و مقدار آن با کمک این نمودار و بر اساس یک گرم بافت گیاهی بدست آمد.

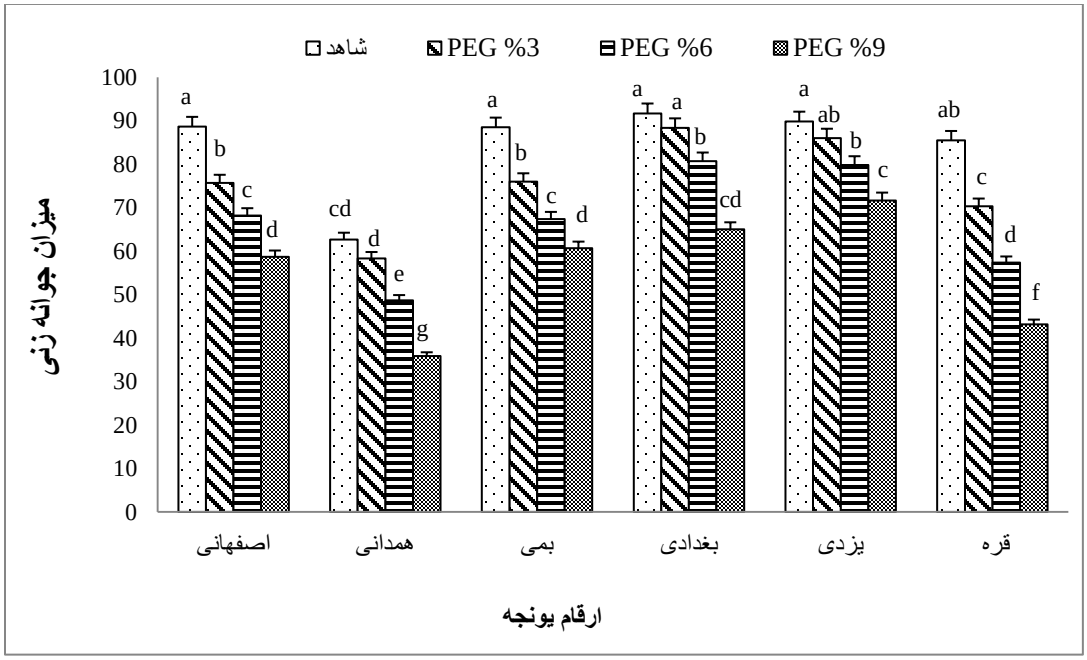
۲-۸ طرح آماری مورد استفاده و آنالیز داده‌ها

تمام آزمایشات طبق طرح کامل تصادفی انجام شد و برای هر تیمار حداقل سه تکرار در نظر گرفته شد. پردازش داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای رایانه‌ای Excel و SPSS صورت گرفت. داده‌های جمع آوری شده مربوط به صفات اندازه‌گیری شده برای تجزیه و تحلیل واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون Duncan، با ضریب اطمینان ۹۵ درصد ($p \leq 0.05$) انجام شد.

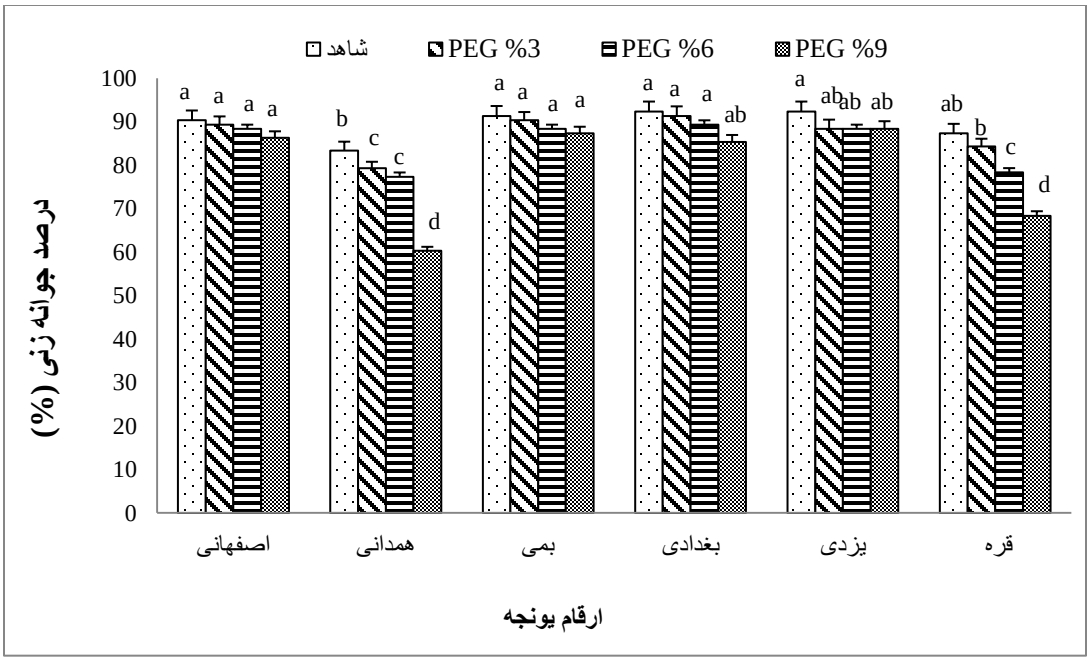
نتایج

۳-۱ شاخص‌های جوانه زنی

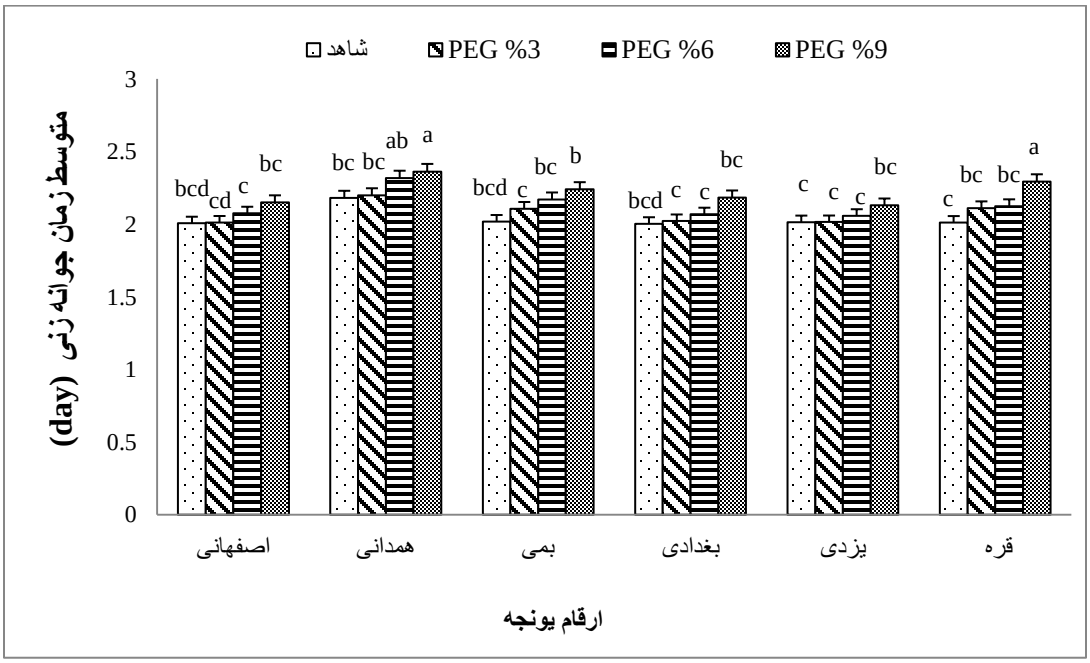
۳-۱-۱ میزان جوانه زنی



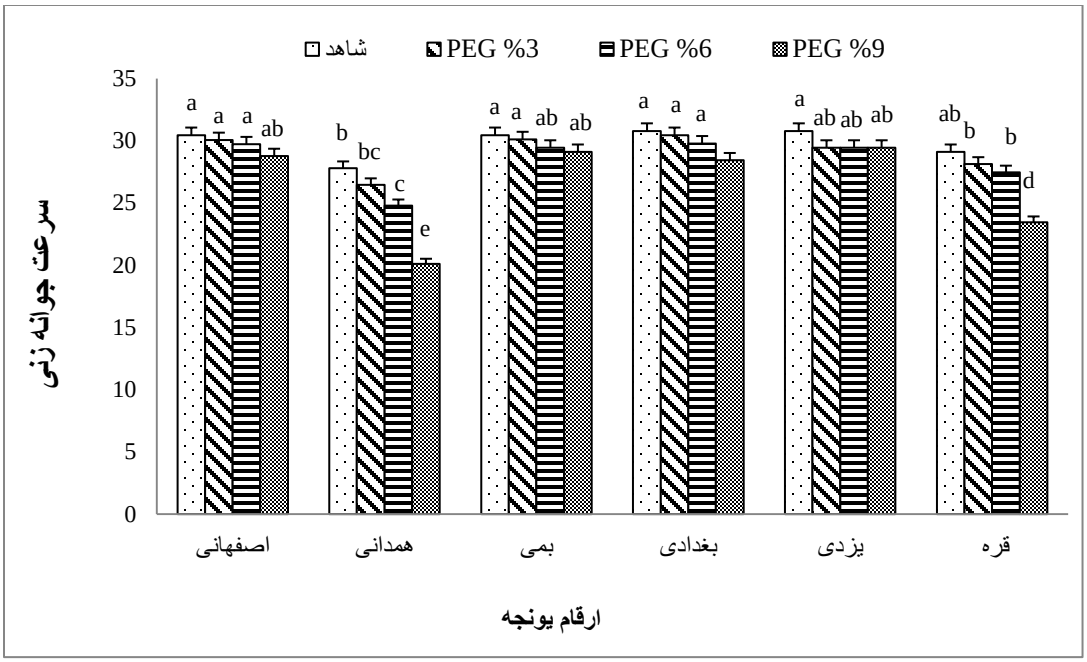
۳-۱-۲ درصد جوانه زنی



۳-۱-۳ متوسط زمان جوانه زنی

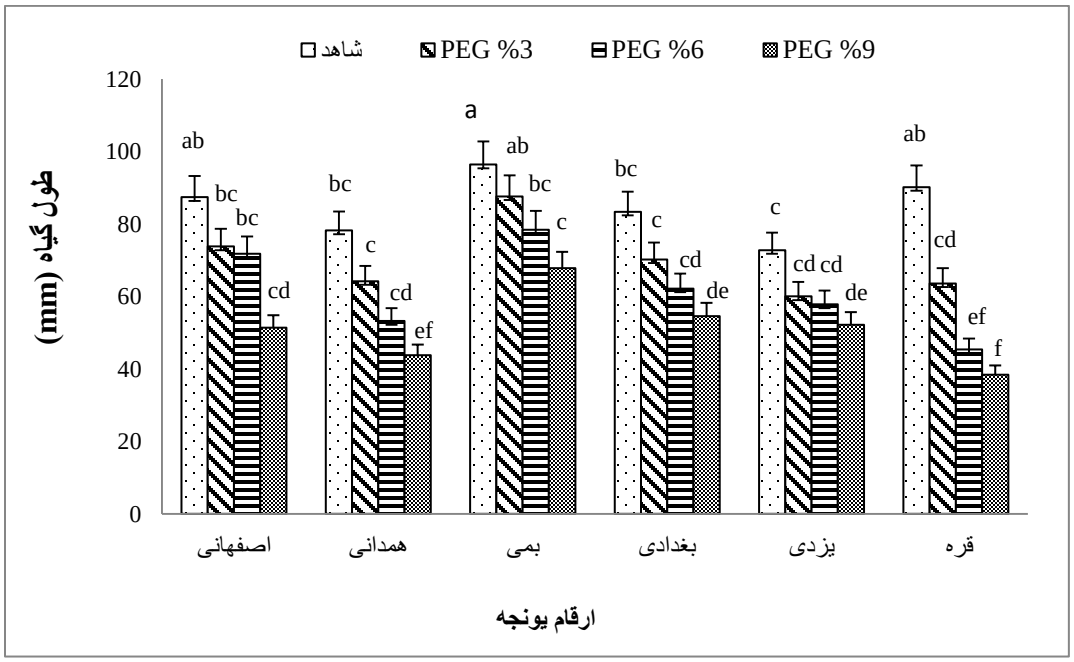


۳-۱-۴ سرعت جوانه زنی

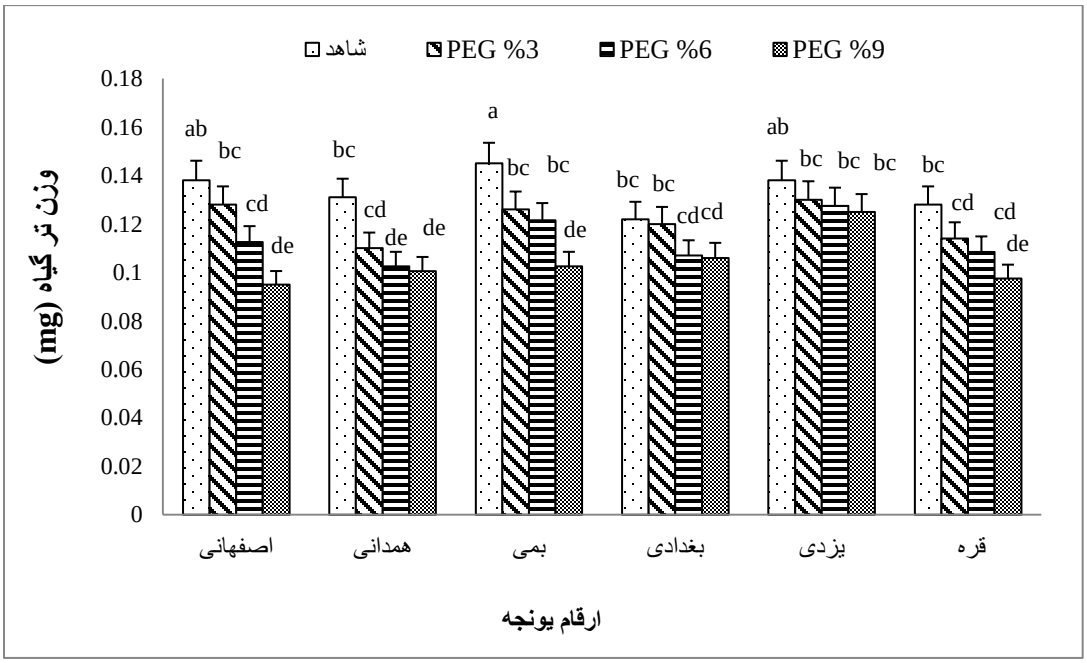


۳-۲ شاخص رشد گیاهچه

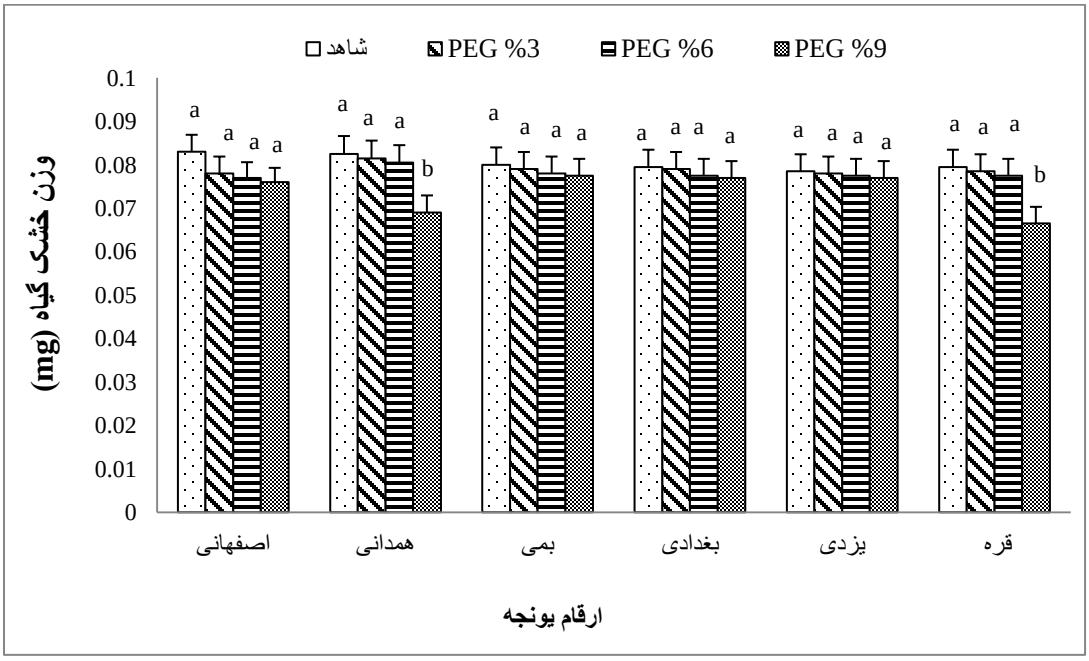
۳-۲-۱ طول گیاهچه



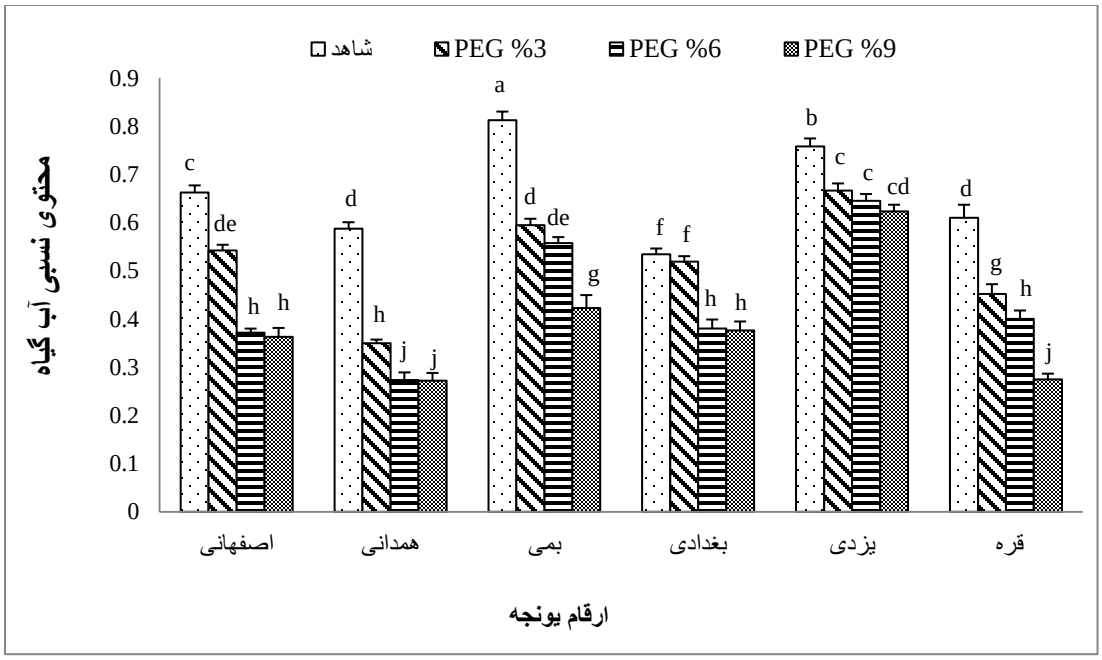
۳-۲-۲ وزن تر گیاهچه



۳-۲-۳ وزن خشک گیاهچه

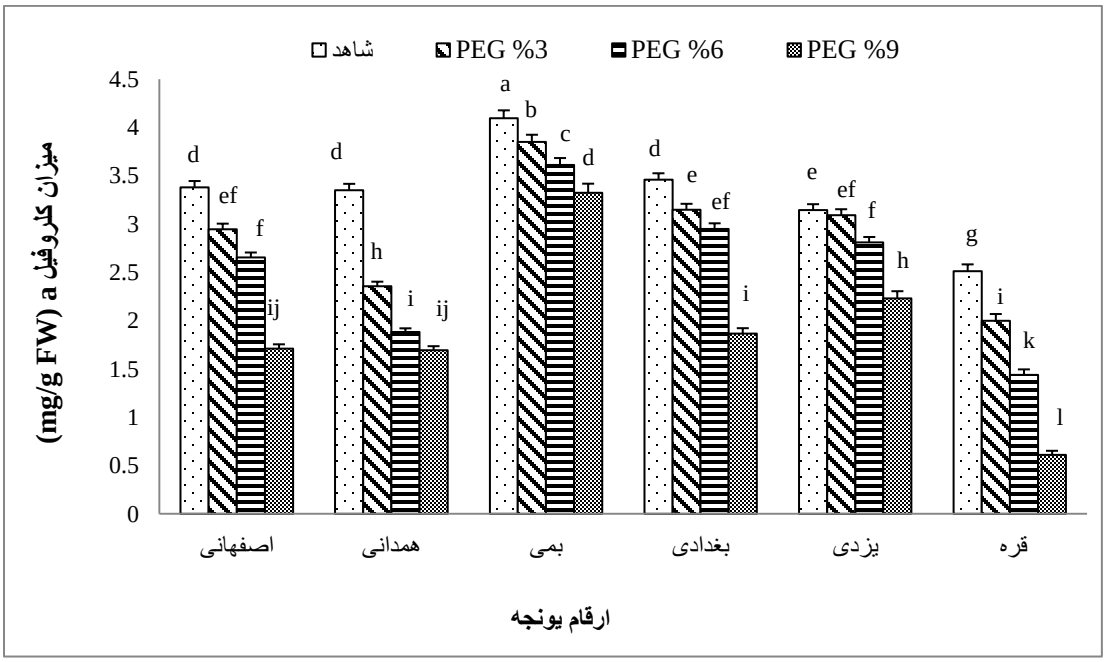


۳-۲-۴ محتوی نسبی آب گیاهچه

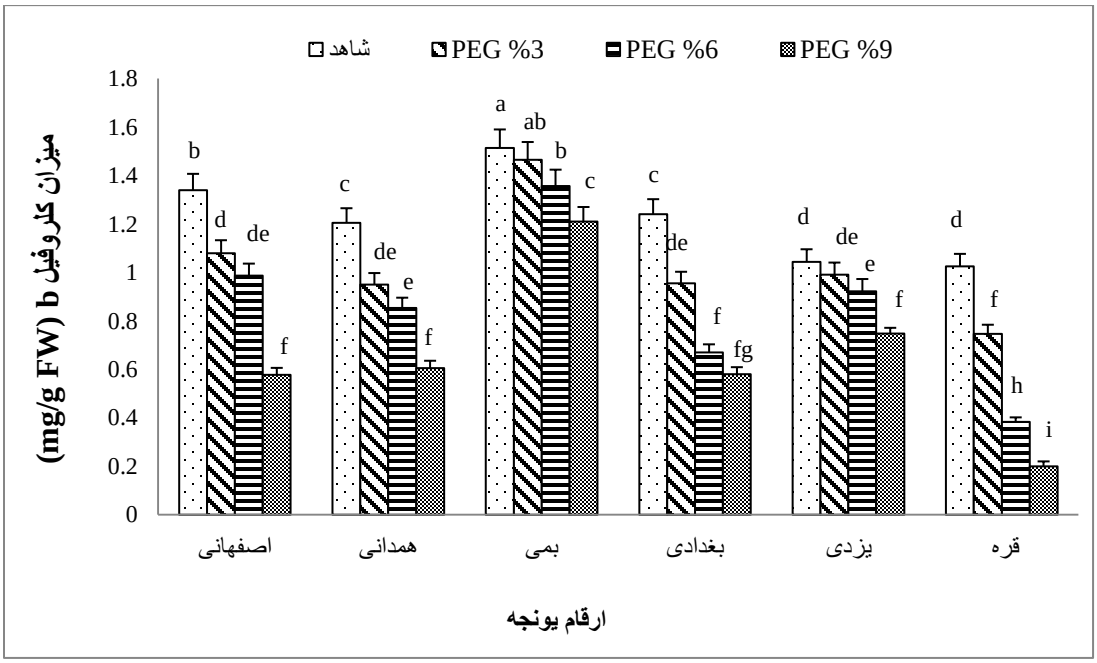


۳-۳ رنگیزه های فتوسنتزی گیاهچه

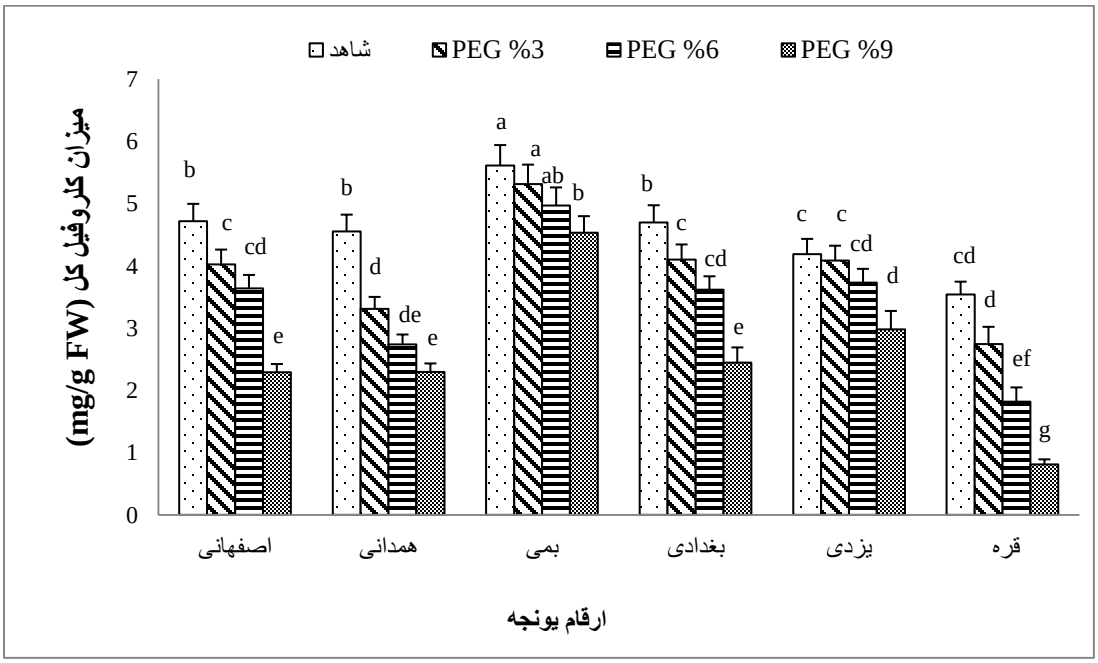
۳-۳-۱ میزان کلروفیل a



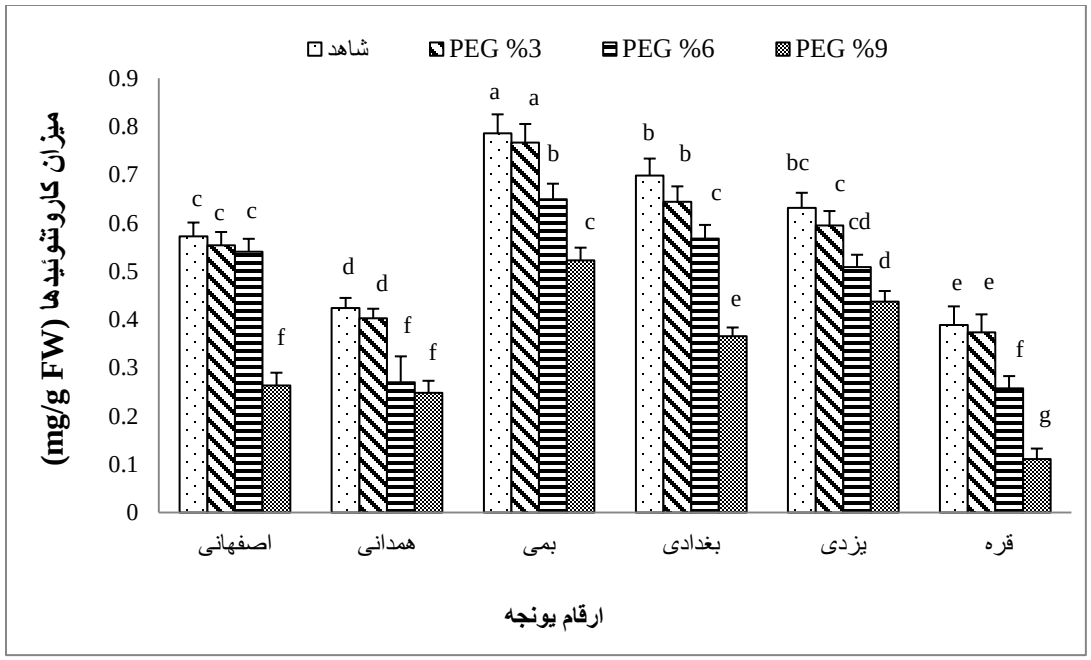
۳-۳-۲ میزان کلروفیل b



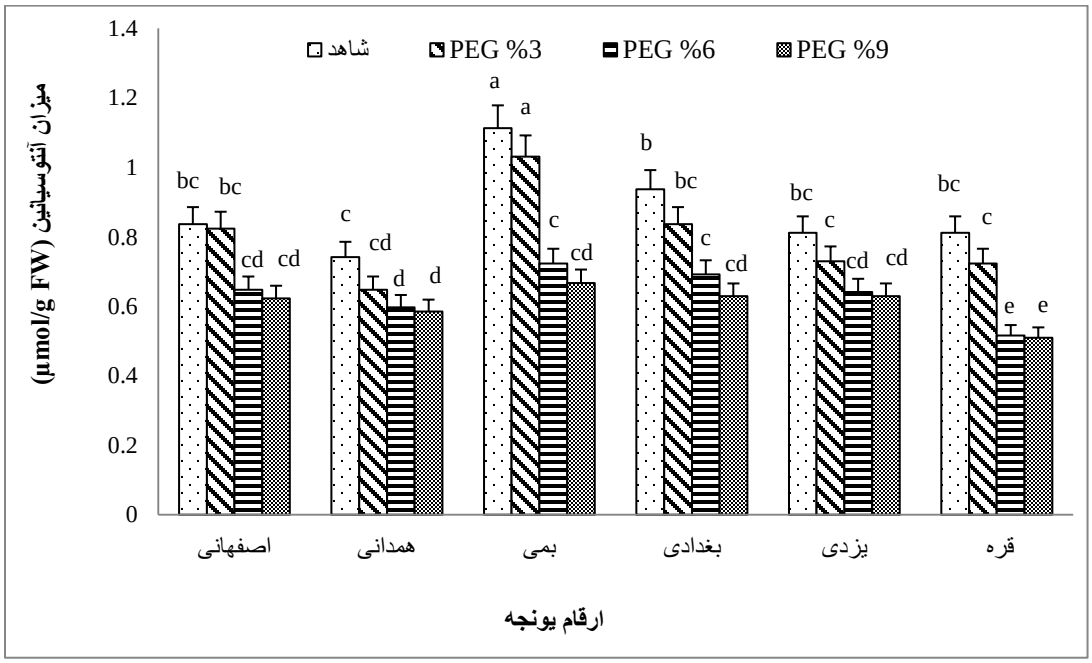
۳-۳-۳ میزان کلروفیل کل



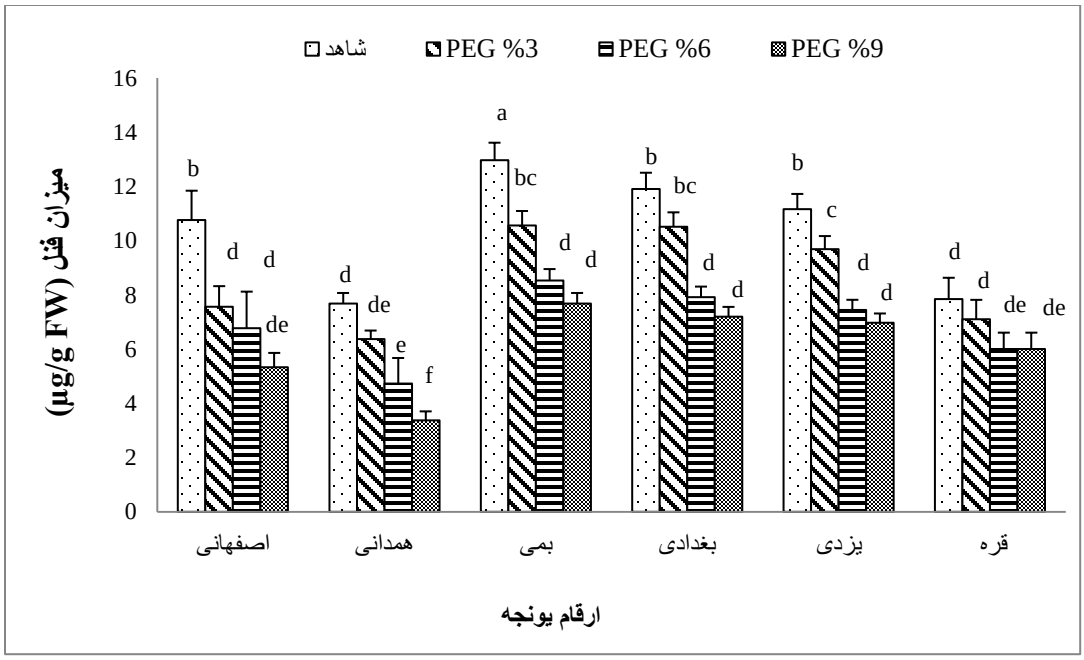
۳-۳-۴ میزان کاروتنوئیدها



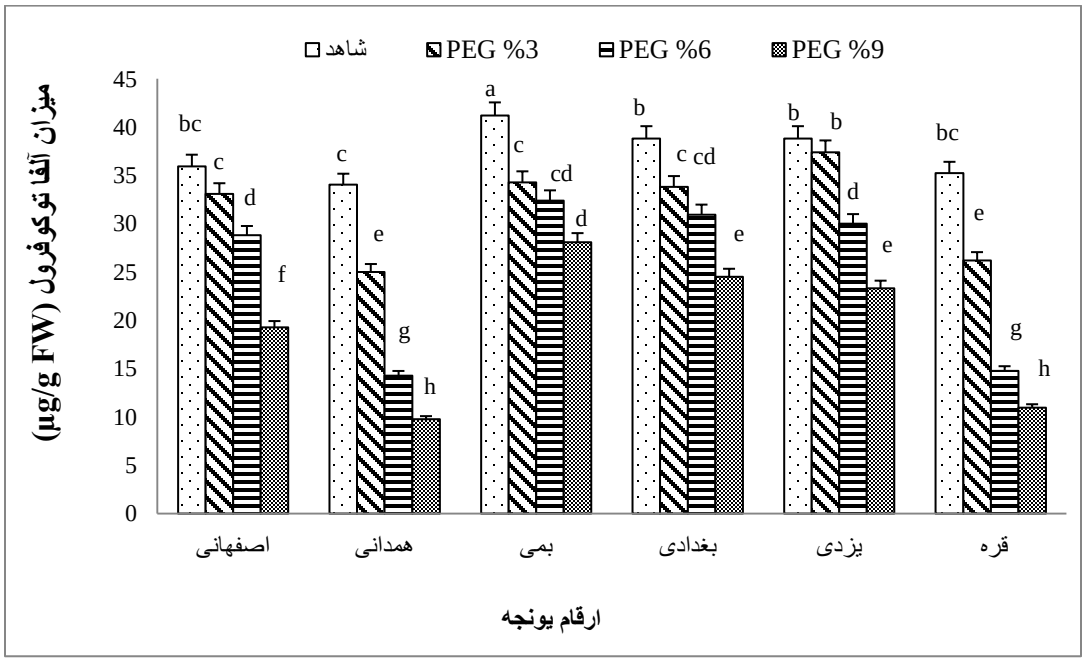
۳-۴ میزان آنتوسیانین های گیاهچه



۳-۵ میزان فنل گیاهچه

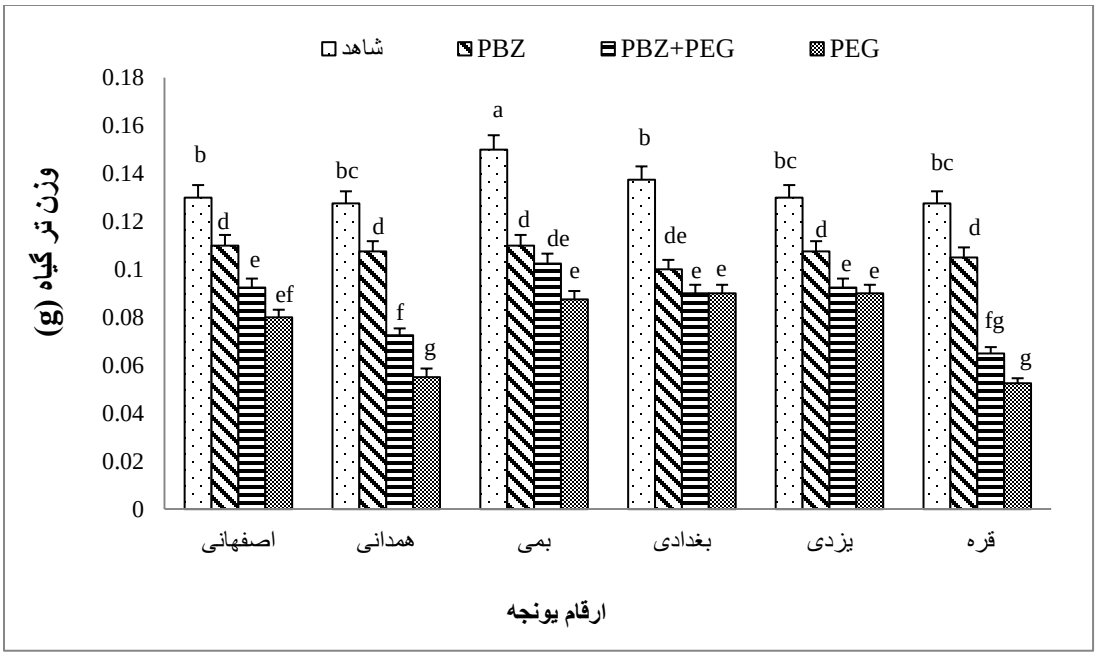


۳-۶ میزان آلفا توکوفرول گیاهچه

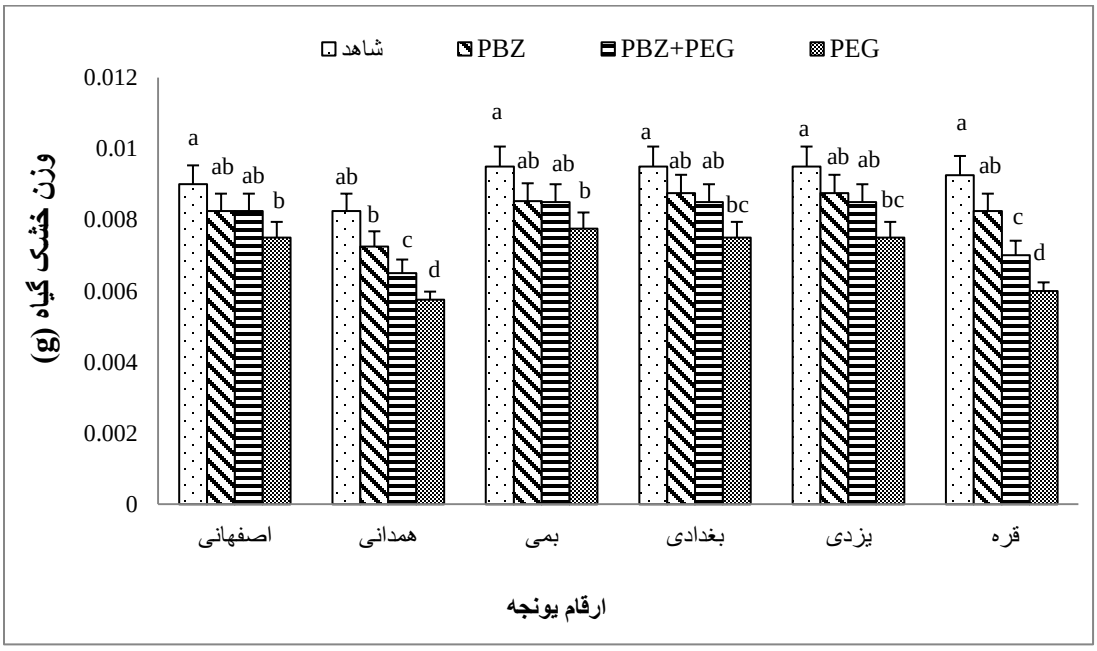


۳-۷ شاخص های رشد گیاه

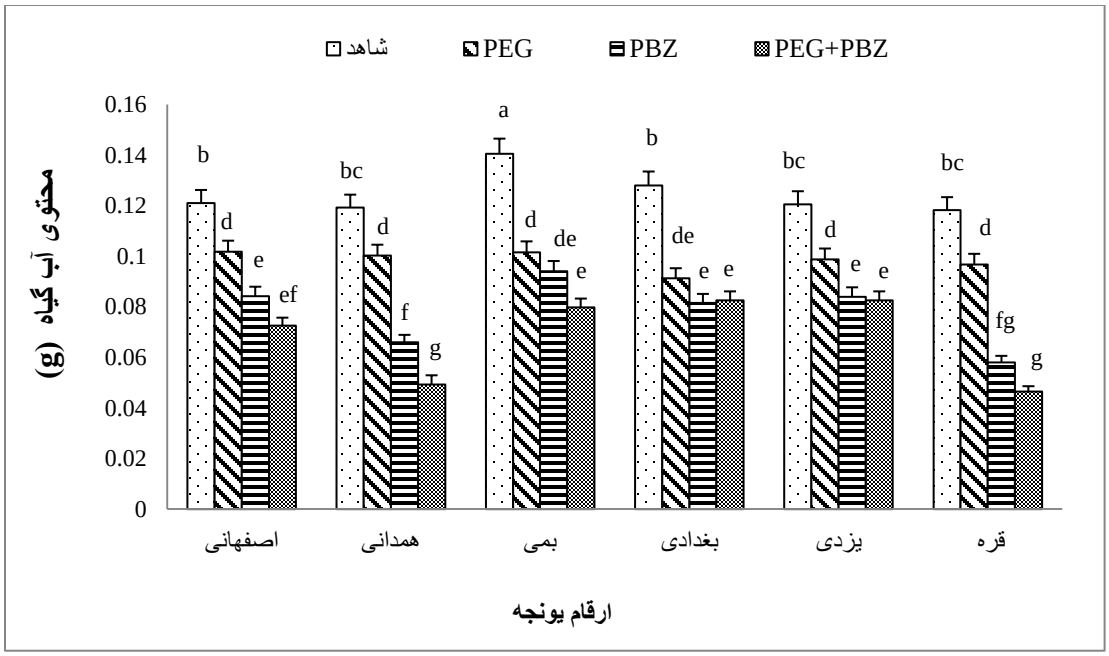
۳-۷-۱ وزن تر گیاه



۳-۷-۲ وزن خشک گیاه



۳-۷-۳ محتوی آب گیاه


شاهد
PEG
PBZ
PEG+PBZ
محتوی آب گیاه (g)
0.16
0.14
0.12
0.1
0.08
0.06
0.04
0.02
0
b
d
e
ef
bc
d
f
g
a
d
de
e
b
de
e
e
bc
d
e
e
bc
d
fg
g
اصفهانی
همدانی
بمی
بغدادی
یزدی
قره
ارقام یونجه

منابع و ماخذ

سوهاني، م. ۱۳۷۵. کنترل و گواهي بذر . انتشارات دانشگاه گيلان

زرگری، ع. ۱۳۷۱. گیاهان داروئی. جلد اول . انتشارات دانشگاه تهران

کریمي، ه. ۱۳۷۵. گیاهان زراعي. انتشارات دانشگاه تهران

Abou El- Khashab, A. M., El- Sammak, A. F., Eliady, A. A. and Salama, M. I. 1997. Paclobutrazol reduces some negative effects of salt stress in peach. Journal of the American Society for Horticultural Science. 122(1), 43- 46.

Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C. and Lei, W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research. 6(9), 2026-2032.

AOSA. 1983. Seed Vigor Hand Testing Book, 122-128 p. Contribution No. 32 to the Handbook on Seed Testing. Association of Official Seed Analysis. Springfield, USA.Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24, 1-10.

Baker, J. G. 1876. Compositae II. Eupatoriaceae. In *Flora Brasiliensis*, C.F.P.von Martius, A.W.Eichler, and I.Urban (Eds), Fleischer, Munich, Lehre, Germany, 6, part 2(1), 199–211, plates 55–58.

Bano, A., Dorffiling, K., Bettin D. and Hahn, H. 1993. Abscisic acid and cytokinine as possible root to shoot signals in xylem sap of rice plants drying soil. Australian Journal of Plant Physiolgy. 20, 109- 115.

Bates, L., Waldren, R. P. and Tear, I. P. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.

Becana, M., Dalton, D. A., Moran, J. F., Iturbe-Ormaetxe, I., Matamoros, M. A. and Rubio, M. C. 2000. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules. Physiologia Plantarum. 109, 372–381.

Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J. K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Science. 45, 437-448.

Cokkizgin, A. and Cokkizgin, H. 2010. Effects of lead (PbCl2) stress on germination of lentil (Lens culinaris Medic.) lines. African Journal of Biotechnoly. 9(50), 8608-8612.

Dalton, D. A., Russell, S. A., Hanus, F. J., Pascoe, G. A. and Evans, H. J. 1986. Enzymatic reactions of ascorbate and glutathione that prevent peroxide damage in soybean root nodules. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 83, 3811-3815.

Ellis, R.A. and Roberts E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science Technology 9, 373-409.

Erdi, L. and Matsomato, H. 1990. Effect of osmotic and salt stresses on the accumulation of polyamines in leaf segments from wheat varieties differing in salt and drought tolerance. Journal of Plant Physiology. 137, 165- 168.

Fletcher, R. and Hofstra, G. 1988. Triazol as potential plant protectants. In: sterol synthesis inhibitors in plant protection. Eds D. Berg, M. Plempel, Cambridge, Ellis Horwood Ltd. 321-331.

Fletcher, R. and Gilley, G. 2000. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. Horticulture Reviews. 24, 57-135.

Gonzalez, A. P. L. and Muller, W. 2004. Effect of pre flowering irrigation on leaf photosynthesis, whole-tree water use and fruit yiled of mango tress reciving two flowering treatment. Scientiae Horticulturae. 102(2), 189-211.

McCu, K. F. and Honson, A. D. 1990. Drought and salt tolerance: Toward understanding and application. Trends in Biotechnology. 10(8), 358- 362.

Neill, S. J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R. D. and Hancock, J. T. 2002. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. Journal of Experimenta Botany. 53, 1237–1247.

Noctor, G. and Foyer, C. H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 49, 249–279.

Qiang, L., Yang, Z. and Shouyi, C. 2000. Plant protein kinase gene induced by drought, high salt and cold stresses. Chinese Science Bulletine. 45, 1153 -1158.

Singleton, V.L., Rossi, J.A.J.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. - Am. J. Enol. Viticult. 16: 144-158, 1965.

Steffen, G. L. and Waog, S. Y. 1984. Physiological changes induced by paclobutrazol in apple. Acta Horticulturae. 146, 135- 142.

Wanger G. J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplasts. Plant Physiology. 64, 88-93.

Zhu, L. H., Peppel, A. V., Li, A. V. and Welander, M. 2004. Changes of leaf water potential and endogenus cytokinins in young apple treated with or without paclobutrazol under drought conditions. Scientiae Horticulturae. 99, 133- 141.