

ارزیابی و گزینش برای تحمل تنش شوری در اکوتیپ‌های امیدبخش یونجه ایرانی
(*Medicago sativa* L.)

Evaluation and selection for salinity stress tolerance in Iranian promising alfalfa
(*Medicago sativa* L.) ecotypes

مسعود ترابی^۱

چکیده

ترابی، م، ۱۳۹۹. ارزیابی و گزینش برای تحمل تنش شوری در اکوتیپ‌های امیدبخش یونجه ایرانی (*Medicago sativa* L.). نشریه علوم زراعی ایران. ۲۲ (۲): ۲۵۲-۲۶۲.

به منظور بهبود تحمل به تنش شوری در اکوتیپ‌های امیدبخش یونجه ایرانی شامل اکوتیپ‌های شورکات، قارقولوق، قره‌گوزلو، رهنانی، رودشت اصفهان و گاوخونی، یک برنامه گزینش دوره‌ای به مدت شش سال در ایستگاه‌های تحقیقات کشاورزی رودشت و کبوترآباد اصفهان طی سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۶ اجرا شد. پس از کاشت بذر اکوتیپ‌های یونجه در پاییز سال اول، بوته‌ها طی فصول بهار و تابستان سال بعد با آب شور (۶ تا ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر؛ به صورت افزایش تدریجی شوری) آبیاری شده و در اواخر تابستان بر اساس خصوصیات فتوسنتزی شامل تعداد ساقه در بوته، ارتفاع بوته، نسبت برگ به ساقه، حساسیت به آفات و بیماری‌ها ارزیابی و تک بوته‌های مطلوب از هر اکوتیپ گزینش و نشانه‌گذاری شدند. سال بعد از بوته‌های انتخابی هر اکوتیپ (پس از چین برداری بوته‌های انتخاب نشده) بذرگیری شده و بذره‌های بوته‌های انتخابی هر اکوتیپ با هم مخلوط شدند. در این آزمایش ۱۳ ژنوتیپ شامل شش اکوتیپ گزینش شده، شش اکوتیپ اولیه و رقم خارجی بولدآگ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس نتایج بدست آمده اکوتیپ‌های قره‌گوزلو انتخابی و رهنانی انتخاب شده به ترتیب با میانگین تولید ۸۰/۲ و ۷۹/۷ تن در هکتار علوفه تر و ۱۹/۴ و ۱۹/۴ تن در هکتار علوفه خشک و میانگین ارتفاع بوته ۶۱/۳ و ۶۲/۳ سانتی متر از تحمل به شوری بالاتری برخوردار بودند. در اکوتیپ‌های قره‌گوزلو انتخابی و رهنانی انتخابی محتوای پروتئین به ترتیب ۱۹/۳ و ۱۹/۷ درصد، نمره خواب زمستانه ۹/۵ و ۵/۵ و آلودگی به سرخرطومی ۱۰/۲ و ۸/۷ درصد بودند. بر اساس نتایج این آزمایش اکوتیپ‌های قره‌گوزلو انتخابی و رهنانی انتخابی متحمل به شوری شناخته شده و برای توسعه کشت در مناطق شور و استفاده در برنامه‌های اصلاحی جهت تولید ارقام سینتتیک، مناسب تشخیص داده شدند.

واژه‌های کلیدی: اکوتیپ، تنش شوری، سرخرطومی، نمره خواب زمستانه و یونجه.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۸ این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی مصوب شماره ۳۸-۰۳-۹۱۱-۲ موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر می باشد.
۱- استادیار پژوهش بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران. (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: masoud.agro.ir@gmail.com)

مقدمه

موقعیت کشور ایران از نظر قرار گرفتن در منطقه خاورمیانه و بروز اثرات تغییر اقلیم و خشکی، کشاورزان را در رابطه با تولید علوفه یونجه در شرایط شور دچار بحران جدی کرده است. استفاده بی رویه از منابع طبیعی و به کارگیری تکنولوژی‌های نامناسب در تولید محصولات کشاورزی، به ویژه در رابطه با آب آبیاری، بخش قابل توجهی از زمین‌های کشاورزی در مناطق خشک را با پدیده شوری مواجه ساخته است (Koocheki and Nasiri Mahalati, 1994).

اصلاح یونجه با اهداف خاص مانند افزایش عملکرد و ایجاد مقاومت در برابر آفات، بیماری‌ها و تنش‌های محیطی در آمریکا، استرالیا و کشورهای اروپایی با اهداف افزایش عملکرد و بهبود خصوصیات کیفی از چند دهه قبل شروع شده است که حاصل این تحقیقات در اروپای شرقی منجر به آزاد سازی ارقام پرمحصول ساندر، کوزمینا، آدین و کارینا در سال ۲۰۰۷ شد (Maria et al., 2007). لیووراس و همکاران (Lioveras et al., 1998)، کرتیکووا و اسکوتی (Kertikova and Scotti, 1999) و دلگادو و همکاران (Delgado et al., 2003) گزارش کردند که یکی از دلایل عدم موفقیت در افزایش عملکرد در برنامه‌های به‌نژادی یونجه می‌تواند این باشد که یونجه از نظر ژنتیکی بصورت جمعیت است و هر جمعیت بصورت کامل و پیچیده‌ای به منطقه‌ای که در آن توسعه یافته، وابسته بوده و به عبارت دیگر هویت منطقه‌ای دارد، از این رو هر اکوتیپ برای همان منطقه خاص بهبود می‌یابد. به علاوه مشکلات مربوط به مسائل وراثت تراسومیک در یونجه کار اصلاح یونجه را مشکل‌تر می‌کند.

اشرف و مک نیلی (Ashraf and McNeilly, 2004) گزارش کردند که با توجه به پیچیده بودن کنترل صفت تحمل به شوری در گیاهان زراعی، تنها رهیافت کاربردی جهت بهبود تحمل به شوری، استفاده از تنوع

ژنتیکی بین و درون گونه‌ای است و گزینش در بین ژنوتیپ‌ها می‌تواند این هدف را تامین کند. قطبی و همکاران (Ghotbi et al., 2017) بر اساس نتایج ترکیب پذیری عمومی و خصوصی برای عملکرد علوفه و صفات زراعی یونجه از طریق تلاقی‌های دی آلل به این نتیجه رسیدند که دورگ‌های اکوتیپ‌های قهواند با سیلوانه ترکیب‌پذیری خصوصی مثبت و معنی داری برای عملکرد علوفه خشک و سرعت رشد مجدد گیاه داشتند. پاریدا و داس (Parida and Das 2005) صفت تحمل به شوری در گیاهان زراعی را صفتی چند ژنی اعلام کردند. گروه‌های ژنی رمز کننده پروتئین‌های مربوط به القای تنش شوری شامل مواردی از قبیل ژن‌های مسئول آنزیم‌های فتوسنتزی، ژن‌های عامل سنتز محلول‌های سازگار، ژن‌های مربوط به آنزیم‌های عمل کننده در قسمت‌بندی واکوئل‌ها و ژن‌های مربوط به آنزیم‌های سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد هستند.

ترابی (Torabi, 2016) گزارش کرد که در مرحله جوانه‌زنی اکوتیپ‌های بمی، گله بانی، نیک شهری، رهنانی و قره‌گوزلو دارای برتری نسبی از نظر تحمل به شوری هستند، در حالی که در مرحله گیاهچه‌گی اکوتیپ‌های شورکات، مهاجران، رهنانی، قارقولوق و نیک شهری از برتری نسبی برخوردار بودند. منیری فر و مظلومی (Monirifar and Mazlomi, 2014) در آزمایشی روی ده اکوتیپ یونجه از مناطق آذربایجان در شرایط کنترل شده و آبیاری با آب شور نتیجه گرفتند که بر اساس صفات اندازه‌گیری شده، اکوتیپ‌های قره‌یونجه، خواجه، بافتان و لغلان برتر بوده و می‌توان از آنها برای محیط‌های با تنش شوری متوسط یا شدید استفاده کرد. علی و همکاران (Ali et al., 2017) به منظور بررسی تحمل شوری در اکوتیپ‌های یونجه، آزمایشی را در محیط هیدروپونیک با سطوح شوری صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم اجرا کردند. نتایج نشان داد، عملکرد علوفه در شرایط بدون تنش با شاخص میانگین بهره‌وری، شاخص تحمل و شاخص

تحمل تنش و در شرایط تنش با میانگین هارمونیک و شاخص تحمل تنش و شاخص عملکرد همبستگی مثبت و بالایی داشت. شوشی دزفولی و همکاران (Shushi Dezfuli et al., 2017) عکس العمل فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پنج اکوتیپ یونجه نسبت به تنش شوری را مورد مطالعه قرار داده و گزارش کردند که افزایش سطح شوری تا ۵۰ میلی مولار باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد و افزایش بیشتر شوری، باعث کاهش فعالیت آنها شد. پیل و همکاران (Peel et al., 2004) با هدف بهبود تحمل به شوری در یونجه رقم CUF101، طی آزمایشی در شرایط هیدروپونیک اقدام به گزینش تک بوته تحت تاثیر شوری با غلظت ۲۵۰ میلی مولار (از منبع سدیم کلراید و کلسیم کلراید) کردند. نتایج نشان داد که بین تک بوته‌های گزینش شده از نظر میزان ماده خشک، ارتفاع بوته، تعداد ساقه و نشأت یونی برگ تنوع قابل توجهی وجود داشت. در آزمایش ارزیابی تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های یونجه جمع آوری شده از مناطق مختلف استرالیا گزارش شد که در بین و داخل اکوتیپ‌ها، وزن خشک ساقه و ریشه، تعداد ساقه و ارتفاع بوته به شدت تحت تاثیر شوری قرار گرفته و با کاهش یا افزایش تحمل به شوری، صفات یاد شده به ترتیب کاهش و افزایش یافتند (Noble et al., 1984). بمنظور غربال برای تحمل به شوری در چهار ژنوتیپ یونجه شامل ماویا، کارگو، توده محلی سوریه و سی‌یواف، آزمایشی در محیط کشت محلول با غلظت ۲۵۰ میلی مول نمک اجرا شد. گزینش پس از دو هفته رشد در محلول بر اساس طول گیاهچه انجام شد. بر اساس نتایج مشاهدات تعداد ۱۱ گیاهچه از ژنوتیپ سی‌یواف و ۱۰ گیاهچه از ژنوتیپ محلی سوریه گزینش و سپس به صورت پلی کراس تلاقی داده شدند. گیاهچه‌های لاین‌های گزینش شده از پلی کراس‌ها در محلول‌هایی تا غلظت ۲۷۵ میلی مول نمک به تولید ساقه

ادامه دادند، در حالی که سایر ژنوتیپ‌ها در محلول نمک بالاتر از ۲۲۵ میلی مول توانایی تولید ساقه نداشتند (Al-Khatib et al., 1993). نکوئیان‌فر و همکاران (Nekoeianfar et al., 2015) در آزمایشی تأثیر زمان برداشت و شوری خاک بر عملکرد و کیفیت علوفه پنج رقم یونجه را مورد ارزیابی قرار داده و گزارش کردند که ارقام یونجه و چین‌های برداشت شده از نظر عملکرد علوفه تر و خشک، ارتفاع بوته، نسبت برگ به ساقه، پروتئین و لیاف خام دارای تفاوت معنی‌داری بودند. نتایج این تحقیق نشان داد که رقم بغدادی دارای بیشترین عملکرد بوده و ارقام بغدادی، نیکشهری و بمی به دلیل کمترین محتوای سدیم برگ در چین تابستانه، تحمل بیشتری به شوری داشتند.

هدف از این تحقیق ارزیابی اکوتیپ‌های امیدبخش ایرانی یونجه از نظر تحمل به شوری و معرفی اکوتیپ‌های متحمل جهت توسعه کشت و استفاده در برنامه‌های اصلاحی جهت تولید ارقام سینتتیک بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سه مرحله شامل گزینش تک بوته، تکثیر و تولید بذر بوته‌های گزینش شده و آزمایش تکراردار، در دو ایستگاه تحقیقات کشاورزی رودشت و کبوتر آباد اصفهان طی سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۶ انجام شد. ایستگاه تحقیقات کشاورزی رودشت در حد فاصل طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۱۰ دقیقه تا ۵۲ درجه و ۱۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۸ دقیقه تا ۳۲/۵ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی، با ارتفاع ۱۵۱۰ متر از سطح دریا، در اراضی با محدودیت شوری و قلیائیت خاک و آب قرار گرفته است. بافت خاک رسی شنی است. ایستگاه تحقیقات و آموزش کشاورزی کبوتر آباد با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۱ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۱۵۴۵ متر از سطح دریا، دارای بافت خاک رسی لومی بوده و دارای اقلیم خشک است. در هر دو

ایستگاه امکانات و تجهیزات لازم برای تهیه آب شور با درجات مختلف هدایت الکتریکی وجود داشت.

شش اکوتیپ یونجه شامل شورکات، قارقولوق، قره گوزلو، رهنانی، رودشت اصفهان و گاوخونی اصفهان (جمع آوری شده از استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی و اصفهان) در پاییز سال ۱۳۹۱ بصورت مجزا کشت شدند. با رعایت فاصله ایزولاسیون، از هر اکوتیپ ۱۵ ردیف ۱۰ متری با فاصله ۵۰ سانتی متر و فاصله روی ردیف ۳۵ سانتی متر در ایستگاه تحقیقات شوری رودشت کاشته شد. عملیات لازم تا استقرار بوته‌ها شامل آبیاری، سله شکنی اولیه، کنترل علف‌های هرز در پاییز همان سال با دقت انجام شد و در اواخر پاییز استقرار خوبی از همه اکوتیپ‌ها بدست آمد. آب آبیاری مورد استفاده تا مرحله استقرار بوته‌ها، آب معمول منطقه با هدایت الکتریکی هفت دسی‌زیمنس بر متر بود. با شروع فصل بهار در سال ۱۳۹۲ و رشد مجدد بوته‌ها، طی فصل بهار و تابستان، آبیاری با آب شور با هدایت الکتریکی ۶ تا ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر انجام شد. افزایش میزان شوری آب آبیاری به صورت تدریجی انجام شد، به‌طوری که در طی شش مرحله آبیاری اول، بصورت یک در میان سه واحد به شوری آب آبیاری اضافه گردیده و تا پایان سال زراعی و گزینش تک بوته‌های برتر حفظ شد. بوته‌های مطلوب بر اساس ارتفاع بوته، تعداد ساقه در بوته، نسبت برگ به ساقه، درصد آلودگی به آفات و بیماری‌ها و وضعیت ظاهری تک بوته در هر اکوتیپ گزینش و نشانه‌گذاری شدند. تعداد بوته برای هر اکوتیپ حدود ۴۵۰ بوته بود که از هر اکوتیپ حداقل ۲۵۰ تا ۳۰۰ بوته بعنوان بوته‌های مطلوب انتخاب شدند. در بهار و تابستان سال ۱۳۹۳ با رعایت ایزوله زمانی بین اکوتیپ‌ها و حذف بوته‌های نامطلوب قبل از گلدهی، در هر اکوتیپ فقط از بوته‌های گزینش شده بذرگیری به‌عمل آمد. بذره‌ای برداشت شده مربوط به هر اکوتیپ بصورت جداگانه با هم مخلوط گردیده و منشاء بذری

شش اکوتیپ انتخابی حاصل شد. طی سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ نسبت به تولید بذر از اکوتیپ‌های اولیه و بهبود یافته اقدام شد. در اواخر تابستان سال ۱۳۹۵ شش توده گزینش شده، شش توده اولیه و یک رقم خارجی بنام بولدگ (اصلاح شده در دانشگاه جورجیا آمریکا) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در ایستگاه کبوتر آباد کشت شدند. هر کرت آزمایشی از چهار ردیف ۱۰ متری با فاصله ۲۵ سانتی متر تشکیل شده بود. میزان بذر مصرفی در حدود ۲۵ کیلوگرم در هکتار در نظر گرفته شد. پس از کاشت بذر تا استقرار کامل بوته‌ها، آبیاری با آب شور با هدایت الکتریکی هفت دسی‌زیمنس بر متر انجام شد. در انتهای فصل پاییز بوته‌های اکوتیپ‌های مورد ارزیابی دارای وضعیت خوبی بوده و استقرار آنها کامل شده بود. از اواخر فصل پاییز و در طول فصل زمستان سال ۱۳۹۵ خواب زمستانه (با اندازه‌گیری ارتفاع بوته‌ها هر ده روز یک‌بار و تبدیل آن به نمره برای هر اکوتیپ) انجام شد. اکوتیپ‌هایی که در اواخر فصل زمستان دارای ارتفاع بوته بیشتری بودند، نمره بالاتری گرفته و درجه خواب کمتری برای آنها در نظر گرفته شد. در بهار سال ۱۳۹۶ پس از شروع رشد مجدد بوته‌ها، درصد آلودگی به آفت سرخرطومی (با شمارش بوته‌های آلوده و تعیین درصد آلودگی) و رشد مجدد آنها اندازه‌گیری شده و نسبت به تیمار آنها با آب شور با هدایت الکتریکی ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر اقدام گردید. نحوه اندازه‌گیری رشد مجدد به این صورت بود که ده روز پس از هر چین ارتفاع متوسط بوته‌های هر اکوتیپ اندازه‌گیری شده و میانگین ارتفاع بوته کلیه چین‌ها محاسبه و تبدیل به نمره شد. در طی چین برداری‌ها صفات ارتفاع بوته، عملکرد علوفه تر، عملکرد علوفه خشک، نسبت برگ به ساقه و میزان پروتئین علوفه اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری صفات مذکور در چین‌های مختلف، پس از اندازه‌گیری ارتفاع حداقل ده بوته و تعیین میانگین ارتفاع آنها به‌عنوان ارتفاع هر اکوتیپ در هر چین، دو

ردیف وسط هر کرت آزمایشی برداشت و ضمن تعیین عملکرد علوفه تر در هکتار، دو نمونه ۲۵۰ و یک نمونه یک کیلوگرمی به ترتیب برای تعیین نسبت برگ به ساقه، اندازه گیری پروتئین و ماده خشک به آزمایشگاه منتقل شدند. برای اندازه گیری پروتئین یک نمونه مرکب علوفه خشک حاصل از کلیه چین ها تهیه شد. تجزیه آماری صفاتی که وابسته به چین برداری بودند بصورت کرت های یک بار خرد شده و سایر صفات بصورت بلوک های کامل تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون توکی انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مقایسه شش توده گزینش شده، شش توده اولیه و یک رقم خارجی (بولداگ) نشان داد که بین اکوتیپ های یونجه در تیمار آب شور از نظر ارتفاع بوته، نسبت برگ به ساقه، عملکرد علوفه تر و عملکرد علوفه خشک تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. با توجه به اینکه اکوتیپ های اولیه از مناطق متفاوت اقلیمی کشور بودند، به نظر می رسد که انتخاب طبیعی باعث تفاوت بین آنها از نظر میزان تحمل به شوری شده است. نتایج تجزیه واریانس عملکرد علوفه و اجزای آن نشان داد که بین چین های مختلف از نظر عملکرد علوفه تر و خشک در سطح احتمال پنج درصد و برای نسبت برگ به ساقه و ارتفاع بوته در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری وجود داشت. از نتایج بدست آمده این گونه استنباط می شود که به دلیل شرایط متفاوت آب و هوایی در هر چین، میانگین عملکرد علوفه و اجزای آن نیز متفاوت است. به علاوه با توجه به تجمع شوری، با افزایش چین، اثر منفی حاصل از شوری بر بوته ها افزایش یافت. برهمکنش اکوتیپ ها با چین نشان داد که اکوتیپ های مورد ارزیابی در چین های مختلف عکس العمل های متفاوتی از نظر عملکرد علوفه و اجزای آن داشتند.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس سایر صفات مرتبط با چین شامل میزان پروتئین، رشد مجدد، خواب زمستانه و حساسیت به سرخرطومی نشان داد که بین اکوتیپ های اولیه و گزینش شده یونجه از نظر خواب زمستانه تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت. این موضوع نشان می دهد که خواب زمستانه یک صفت ژنتیکی است که اکوتیپ ها تحت تاثیر انتخاب طبیعی، از منطقه ای که قبلا در آن تکامل یافته اند، کسب می کنند. اکوتیپ های یونجه با منشاء سردسیری دارای درجات خواب بیشتری نسبت به اکوتیپ های تکامل یافته در مناطق معتدله و گرمسیری هستند. نتایج نشان داد که اکوتیپ های یونجه از نظر درصد آلودگی به سرخرطومی برگ و رشد مجدد تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد داشتند. میانگین درصد پروتئین علوفه اکوتیپ های یونجه در شرایط تنش شوری در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود.

نتایج مقایسه میانگین عملکرد علوفه نشان داد که در بین اکوتیپ های یونجه از نظر ارتفاع بوته، دامنه تغییراتی از ۴۲/۱ تا ۶۲/۳ سانتی متر وجود داشت. کمترین ارتفاع بوته مربوط به رقم بولداگ و بیشترین ارتفاع مربوط به اکوتیپ رهنانی انتخابی بود (جدول ۱). در تایید نتایج بدست آمده، نتایج آزمایش پیل و همکاران (Peel et al., 2003) و نوبل و همکاران (Nobel et al., 1984) نیز نشان داد که ژنوتیپ های یونجه در مواجهه با تنش شوری از نظر ارتفاع بوته عکس العمل های متفاوتی داشتند. نتایج مقایسه میانگین ارتفاع بوته در اکوتیپ های یونجه نشان داد که گزینش تک بوته در بین توده اولیه باعث بهبود صفات آنها شد، بطوریکه ارتفاع اکوتیپ اولیه رهنانی ۵۸/۵ سانتی متر بود و پس از گزینش به ۶۲/۳ سانتی متر افزایش پیدا کرد. ارتفاع بوته در اکوتیپ رهنانی حدود ۶/۵ درصد و در اکوتیپ قره گوزلو حدود ۶/۱ درصد افزایش نشان داد.

جدول ۱- مقایسه میانگین ارتفاع بوته، نسبت برگ به ساقه و عملکرد علوفه اکوتیپ‌های یونجه در شرایط تنش شوری

Table 1. Mean comparison of plant height, leaf to stem ratio, and forage yield of alfalfa ecotypes under salinity stress condition

Alfalfa ecotypes	اکوتیپ‌های یونجه	ارتفاع بوته Plant height (cm)	نسبت برگ به ساقه Leaf:Stem	عملکرد علوفه تر Fresh forage yield (ton.ha ⁻¹)	عملکرد علوفه خشک Dry forage yield (ton.ha ⁻¹)
Gavkhooni	گاوخونی	52.3d	1.32def	62.7c	14.5b
Bulldog	بولداگ	42.1e	1.75a	61.7c	14.9b
Selected Roodasht	رودشت انتخابی	57.5bc	1.29ef	67.1abc	16.2ab
Roodasht	رودشت	55.3cd	1.37cde	58.8c	14.3b
Rehnani	رهنانی	52.5d	1.44bc	68.6bc	16.2b
Gharghologh	قارقولوق	52.9d	1.37def	60.1c	14.1b
Selected Gharghologh	قارقولوق انتخابی	55.3cd	1.41bcd	70.5abc	17.1ab
Selected Shorkat	شورکات انتخابی	53.2d	1.34def	63.5bc	15.3b
Shorkat	شورکات	52.2d	1.49b	59.0c	14.3b
Selected Gavkhooni	گاوخونی نخبی	58.9abc	1.25f	68.4abc	16.2ab
Selected Gharaghooloo	قره‌گوزلو انتخابی	61.3ab	1.25f	80.2a	19.4a
Gharaghooloo	قره‌گوزلو	57.7bc	1.25f	69.1abc	16.3ab
Selected Rehnani	رهنانی انتخابی	62.3a	1.39cde	79.7a	19.4a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند
Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Tukey test

اکوتیپ انتخابی رهنانی (به ترتیب با ۸۰/۲ و ۷۹/۷ تن در هکتار علوفه تر و ۱۹/۴ و ۱۹/۴ تن در هکتار علوفه خشک، بالاترین رتبه را طی شش چین داشتند (جدول ۳). گزینش تک بوته در توده‌های اولیه قره‌گوزلو و رهنانی، به عنوان اکوتیپ‌های شاخص، باعث افزایش عملکرد ماده خشک (به ترتیب ۱۹ و ۱۹/۷ درصد) شد. مقایسه میانگین‌های ارتفاع بوته در چین‌های مختلف نشان داد که با افزایش تعداد دفعات چین، ارتفاع بوته در اکوتیپ‌های یونجه کاهش معنی‌داری یافت. بیشترین میانگین ارتفاع بوته مربوط به چین اول (۶۵/۱ سانتی‌متر) و کمترین میانگین ارتفاع بوته مربوط به به چین ششم (۳۵/۸ سانتی‌متر) بود (جدول ۴). عملکرد علوفه تر و خشک در چین‌های مختلف بسیار متغیر بود و بیشترین مقدار علوفه تر (۱۶/۱۶ تن در هکتار) و خشک (۳/۸۳ تن در هکتار) مربوط به چین اول و کمترین مقدار آنها مربوط به چین ششم (۶/۳۱ تن در هکتار علوفه تر و ۱/۵۸ تن در هکتار علوفه خشک) بود (جدول ۲).

نسبت برگ به ساقه از جمله شاخص‌هایی است که بر کیفیت علوفه یونجه تاثیر مستقیم داشته و با افزایش آن، میزان پروتئین علوفه نیز افزایش می‌یابد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که فشار ناشی از گزینش برای افزایش عملکرد علوفه بر نسبت نسبت برگ به ساقه تاثیر منفی داشت و اکوتیپ‌های انتخابی نسبت برگ به ساقه کمتری در مقایسه با توده اولیه داشتند. این کاهش در اکوتیپ رهنانی انتخابی نسبت به توده اولیه ۴/۵ درصد بود (جدول ۳). زمانیان (Zamanian, 2003) نیز گزارش کرد که نسبت برگ به ساقه بین ژنوتیپ‌های یونجه و چین‌های مختلف تغییرات زیادی داشته و نسبت برگ به ساقه تاثیر چشمگیری بر کیفیت علوفه نو تیپ‌ها داشت. اگرچه کیفیت علوفه از اهمیت زیادی برخوردار است، ولی تاثیرگذارترین صفت برای گزینش یک ژنوتیپ در مواجهه با تنش شوری، عملکرد علوفه تر و خشک است. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که عملکرد علوفه تر و خشک، اکوتیپ انتخابی قره‌گوزلو و

جدول ۲- مقایسه میانگین ارتفاع بوته، نسبت برگ به ساقه و علوفه اکوتیپ‌های یونجه در چین‌های مختلف در شرایط تنش شوری

Table 2. Mean comparison of plant height, leaf to stem ratio, and forage yield of alfalfa ecotypes at different cuttings under salinity stress condition

چین Cutting	ارتفاع بوته Plant height (cm)	نسبت برگ به ساقه Leaf:Stem	عملکرد علوفه تر Fresh forage yield (ton.ha ⁻¹)	عملکرد علوفه خشک Dry forage yield (ton.ha ⁻¹)
1	65.1a	1.29d	16.16a	3.83a
2	60.0b	1.21e	10.82d	2.50d
3	56.6c	1.33c	12.98b	3.09b
4	56.4c	1.47b	11.72c	2.89c
5	55.4c	1.50a	8.26e	2.06e
6	35.8d	1.44b	6.31f	1.58f

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند
Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Tukey test

علوفه مربوط به رقم اصلاح شده بولدگاگ (۲۱/۳) درصد) و کمترین مقدار آن (۱۹/۱ درصد) مربوط به اکوتیپ قره‌گوزلو بود (جدول ۳).

رشد مجدد از جمله صفات مهم در ارزیابی ژرم‌پلاسم‌های یونجه است و نشان دهنده توانایی یک ژنوتیپ‌ها در تولید زیست توده در مدت زمان مشخص پس از هر برداشت (چین) است. اکوتیپ‌هایی که دارای رشد مجددی بیشتری هستند به همان نسبت عملکرد علوفه تر و خشک بیشتری نیز دارند (جدول ۱ و ۳). اکوتیپ‌های رهنانی انتخابی و قره‌گوزلو انتخابی به ترتیب با نمره رشد مجدد ۱۰ و ۸/۵ و علوفه خشک ۱۹/۴ و ۱۹/۴ تن در هکتار، از برتری نسبی برخوردار بودند (جدول ۱ و ۳). سرخرطومی یونجه از جمله آفات مهم یونجه است که در انتخاب ژرم‌پلاسم یونجه از اهمیت زیادی دارد. حساسیت به این آفت در اکوتیپ‌ها و ارقام یونجه باعث از بین رفتن بخشی یا کل برداشت اول یونجه می‌شود. ژنوتیپ‌هایی که حساسیت کمتری نسبت به این آفت داشته باشند، علوفه بیشتری را در چین اول و در مجموع سال تولید می‌کنند. بر اساس نتایج بدست آمده، اکوتیپ رهنانی انتخابی کمترین میزان آلودگی (۸/۷ درصد) و اکوتیپ رودشت اصفهان بیشترین میزان آلودگی (۴۶/۲ درصد) را داشتند (جدول

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش تعداد چین‌ها عملکرد علوفه به دلیل کاهش ذخیره و تجمع شوری در محدوده ریشه کاهش یافت. عملکرد علوفه تر و خشک در چین دوم به مقدار زیادی کاهش یافته و این چین در رده چهارم قرار گرفت. به نظر می‌رسد که پس از شوک اولیه اکوتیپ‌های یونجه شرایط شوری را بهتر تحمل کرده و در چین‌های سوم و چهارم عملکرد علوفه بیشتری نسبت به چین دوم بدست آمد (جدول ۲). این موضوع با نتایج حاصل از آزمایش طباطبایی و همکاران (Tabatabai et al., 2017) مطابقت داشت. در آزمایش ایشان که به منظور ارزیابی اثر زمان‌های برداشت بر عملکرد علوفه و میزان پروتئین ارقام یونجه انجام شده بود، عملکرد و کیفیت علوفه در چین اول بالاترین مقدار را داشت. میزان پروتئین با نسبت برگ به ساقه رابطه مستقیم دارد و با افزایش نسبت برگ به ساقه در یک اکوتیپ، میزان پروتئین علوفه نیز بیشتر خواهد بود. رقم بولدگاگ با بالاترین نسبت برگ به ساقه (۱/۷۵)، بیشترین میزان پروتئین (۲۱/۳۸ درصد بر اساس ماده خشک) را داشت (جدول ۱ و ۳). بر اساس نتایج بدست آمده، محتوای پروتئین علوفه اکوتیپ‌های یونجه در شرایط تنش شوری واریانس زیادی داشت. بیشترین میزان پروتئین

می‌باشند. اکوتیپ‌های قره‌گوزلو و قره‌گوزلو انتخابی به ترتیب با نمره خواب زمستانه ۱۰ و ۹/۵ دارای بیشترین خواب بوده و اکوتیپ‌های اصفهانی شامل رودشت؛ رودشت انتخابی با نمره خواب ۴ دارای کمترین خواب زمستانه بودند (جدول ۳).

۳). خواب زمستانه از جمله صفات ژنتیکی است که ارتباط نزدیکی با زیست‌یوم محل تکامل اکوتیپ دارد. به طور کلی اکوتیپ‌هایی که در مناطق سردسیر تکامل پیدا کرده‌اند از نمره خواب زمستانه بالاتری برخوردار هستند و بالعکس مناطق گرمسیر و با عرض جغرافیایی پایین‌تر دارای نمره خواب کمتر و متمایل به صفر

جدول ۳- مقایسه میانگین میزان پروتئین علوفه، درصد آلودگی به سرخرطومی، رشد مجدد و خواب زمستانه اکوتیپ‌های یونجه در شرایط تنش شوری

Table 3. Mean comparison of protein content of forage, weevil susceptibility, regrowth and winter dormancy of alfalfa ecotypes under salinity stress condition

Alfalfa ecotypes	اکوتیپ‌های یونجه	پروتئین Protein (%)	حساسیت به سرخرطومی Weevil susceptibility (%)	نمره رشد مجدد Regrowth score	نمره خواب زمستانه Winter dormancy score
Gavkhoni	گاوخونی	21.27a	30.0abc	4.2ef	4.7d
Bulldog	بولداگ	21.38a	27.5bc	6.5cd	7.5b
Selected Roodasht	رودشت انتخابی	21.11ab	37.5ab	6.5 cd	4.0d
Roodasht	رودشت	19.37de	46.2a	6.7 cd	4.0d
Rehnani	رهنانی	19.20e	31.2abc	8.5ab	5.0d
Gharghologh	قارقلوق	20.11c	25.0bcd	3.7f	8.0b
Selected Gharghologh	قارقلوق انتخابی	20.72b	13.7def	5.7d	8.5a
Selected Shorkat	شورکات انتخابی	19.78cd	32.5abc	6.0d	7.0c
Shorkat	شورکات	19.98c	17.5cde	7.5c	7.5b
Selected Gavkhoni	گاوخونی انتخابی	19.97c	11.2def	7.2c	4.5d
Selected Gharaghozloo	قره‌گوزلو انتخابی	19.34de	10.2ef	8.5ab	9.5a
Gharaghozloo	قره‌گوزلو	19.15e	25.0bcd	7.7bc	10.0a
Selected Rehnani	رهنانی انتخابی	19.70cde	8.7f	10.0a	5.5cd

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Tukey test

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که بین اکوتیپ‌های یونجه از نظر میزان تحمل شوری تفاوت معنی‌داری وجود داشت و میزان تحمل شوری در اکوتیپ‌های انتخابی بیشتر از توده‌های اولیه بود و به نظر می‌رسد که گزینش هدفمند در بین توده‌های اولیه باعث بهبود تحمل شوری و عملکرد علوفه (۱۵ تا ۲۰ درصد) در توده‌های انتخابی گردید. اکوتیپ‌های قره‌گوزلو انتخابی و رهنانی انتخابی به ترتیب با ۷۹/۷ و ۸۰/۲ تن در هکتار علوفه تر و ۱۹/۴ و ۱۹/۴ تن در هکتار علوفه خشک و میانگین ارتفاع بوته ۶۱/۳ و ۶۲/۳ سانتی‌متر،

بعنوان متحمل‌ترین اکوتیپ‌ها، نسبت به توده‌های اولیه و سایر ژنوتیپ‌ها، شناخته شدند. اکوتیپ رهنانی و قره‌گوزلو (قره یونجه) از اکوتیپ‌های معروف و شناخته شده یونجه ایرانی هستند که به ترتیب در استان اصفهان و آذربایجان شرقی تکامل و سازگاری پیدا کرده‌اند. بر اساس نتایج آزمایش اشرفی و همکاران (Ashrafi et al., 2015) و ترابی (Torabi, 2016) در خصوص تحمل شوری اکوتیپ‌ها و ژرم پلاسما یونجه ایرانی و منیری‌فر و مظلومی (Monirifar and Mazlumi 2014) در خصوص غربالگری و گزینش در اکوتیپ‌های یونجه آذربایجان و با توجه به

سپاسگزاری

نگارنده لازم می داند که از رییس و کارکنان ایستگاه های تحقیقاتی رودشت و کبوتر آباد اصفهان و همچنین از آقای مهندس جمشید کاوه که در اجرای این پروژه تحقیقاتی همکاری نموده اند، کمال تشکر و قدردانی را نماید.

نتایج آزمایش حاضر استنباط می شود که اکوتیپ های قره گوزلو انتخابی و رهنانی انتخابی نسبت به سایر اکوتیپ ها متحمل تر به شوری هستند و گزینش برای تحمل شوری در این اکوتیپ ها منطقی به نظر می رسد و برنامه های اصلاحی مانند تلاقی یا تولید ارقام سینتتیک با استفاده از دو این اکوتیپ می تواند پژوهشگران را به معرفی رقم متحمل به شوری رهنمون سازد.

References

منابع مورد استفاده

- Ali, S., M. Tavakoli, K. Poustini, A. Pourbabai and H. Alizadeh. 2017. Evaluation of salinity tolerance of alfalfa ecotypes using tolerance indices. Iran. J. Field Crop Sci. 48(2): 579-589. (In Persian with English abstract).
- AL-Khatib, M., T. McNeilly and J.C. Collins. 1993. The potential of selection and breeding for improved salt tolerance in Lucerne (*Medicago sativa* L.) Euphytica. 65:43-51.
- Ashraf, M. and T. McNeilly. 2004. Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Rev. Plant Sci. 23(2): 127-214.
- Ashrafi, A., J. Razmjoo and M. Zahedi. 2015. Investigation of salinity stress on biochemical properties of seedlings and its relation with salinity tolerance of alfalfa cultivars in field conditions. Pazhohesh and Sazandegi (Agron. J.), 109: 43-58. (In Persian with English abstract).
- Delgado, I., D. Andueza and F. Munoz. 2003. Forage yield and persistence of lucerne cultivars in two harvest frequencies. In: J. Nedelnik and B. Cagas (Eds.), Biodiversity and genetic resources as the bases for future breeding. Proceedings of the XXV Eucarpia Fodder Crops and Amenity Grasses Section and XV Eucarpia *Medicago* spp. Group Meeting, September 1-4, 2003, Brno, Czech Republic., Czech J. Genet. Breed. 39 (Special Issue): 278-280.
- Ghotbi, V., H. Dehghani, R. Choukan and M. Moeini. 2017. Determination of general and specific combining abilities for forage yield and agronomic traits in alfalfa (*Medicago sativa* L.) diallell crosses. Iran. J. Field Crop Sci. 48 (13) 637-646. (In Persian with English abstract).
- Kertikova, D. and C. Scotti. 1999. Fall dormancy in lucerne varieties and its relation to performance. In: F. Veronesi, and D. Rosellini (Eds.), Lucerne and medics for the XXI century. Proceedings of the XIII Eucarpia *Medicago* spp. Group Meeting. September 13-16, 1999, Perugia, Italy.
- Koocheki, A. and M. Nasiri Mahalati. 1994. Feed value of some halophytic range plants of arid regions of Iran. In: S. Victore, and A. Alit (Eds.), Halophytes as a resource for livestock. Kluwer Academic Publishers, Printed in the Netherlands.
- Lioveras, J., A. Lopez, J.A. Betbese, M. Baga and A. Lopez. 1998. Evaluacion de variedades de en los

- regadios del valle del Ebro: analisis de las diferencias varietales. Pastos. XXVIII (1): 37–56.
- Maria, S., V. Paul, M. Teodor, M. Elena and D. Alexandrina. 2007.** New Romanian cultivars of alfalfa developed at Nardi Fundulea. Agricultural Research. Romania. No. 24.
- Monirifar H. and R. Mazlomi. 2014.** Repeated screening for selection of salt tolerant alfalfa ecotypes. J. Crop Breed. 6 (13): 89-100. (In Persian with English abstract).
- Nekoeianfar, Z., Sh. Lack and Gr. Abadouz.** Assessment effect of cutting time and soil salinity on quality and quantity forage yield of five alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties under Ahvaz conditions. Plant Prod. (Sci. J. Agric.) 40(3): 113-127. (In Persian with English abstract).
- Noble, C. L., G. M. Halloran and D.W. West. 1984.** Identification and selection for salt tolerance in lucerne (*Medicago sativa* L.). Aust. J. Agric. Res. 35: 239-252.
- Parida, A. K. and A.B. Das. 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecol. Environ. Safety. 60: 324-349.
- Peel, M., B. Waldron, K. Jensen, N. Chatterton, H. Horton and L. Dudley. 2004.** Screening for salinity tolerance in alfalfa: A repeatable method. Crop Sci. 44: 2049-2053.
- Shushi Dezfuli, A., A. Paknejad and N. Zarifinia. 2017.** Evaluation of salinity tolerance of some alfalfa ecotypes using physiological and biochemical traits. J. Crop Physiol. 9 (35): 105-120. (In Persian with English abstract).
- Tabatabai, A., A. Shakeri and M. Aliniya. 2017.** Effect of harvest time on forage yield and protein content of different alfalfa cultivars in Yazd region. J. Plant Ecophysiol. 29: 146-156. (In Persian with English abstract).
- Torabi, M. 2016.** Physiological and biochemical responses of alfalfa to salt stress (Salt tolerance screening in alfalfa ecotypes). LAP (Lambert Academic Publishing).
- Zamanian, M. 2003.** Evaluation of quantitative and qualitative yield of alfalfa cultivars in different cuts. J. Agric. Sci. Natur. Resour. 10 (1): 73-82. (In Persian with English abstract).
- Yan, W. and N.A. Tinker. 2006.** Biplot analysis of multi-environment trial data: principles and applications. Can. J. Plant Sci. 86(3): 623–645.

Evaluation and selection for salinity stress tolerance in Iranian promising alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes

Torabi, M.¹

ABSTRACT

Torabi, M. 2020. Evaluation and selection for salinity stress tolerance in Iranian promising alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 22(3): 252-262. (In Persian).

To improve salinity stress tolerance in Iranian promising alfalfa ecotypes, including Shorkat, Gharghologh, Gharaghozloo, Rehnani, Roodasht Isfahan and Gavkhooni, a recurrent selection scheme was carried out at roodasht and kabootarabad field stations, Isfahan, Iran, during 2012-2017 growing seasons. Six Iranian promising alfalfa ecotypes were planted in the autumn of 2012 and irrigated with saline water of 6 to 15 dS.m⁻¹ during spring and summer of the following year. The ecotypes were evaluated in late summer of the same year using phenotypic characteristics of the plants including; stem no.plant⁻¹, plant height, leaf: shoots ratio, and reaction to pests and diseases, and desirable plants were marked and selected from each ecotype. Seed from selected plants of each ecotype were harvested and bulked. Next year, 13 entries including six selected bulk ecotypes, six Iranian promising ecotypes, and one foreign cultivar (Bulldog) were evaluated using randomized complete block design with four replications. Results showed that derivative ecotypes of Gharaghozloo and Rehnani with average forage production of 80.2 and 79.7 ton.ha⁻¹ fresh forage yield, 19.4 and 19.4 ton.ha⁻¹ dry forage yield and average plant height of 61.3 and 62.3 centimeter, respectively, were salinity tolerant ecotypes. The derivative ecotypes of Gharaghozloo and Rehnani had 19.3% and 19.7% protein content, respectively. These derivatives obtained of 9.5 and 5.5 winter dormancy scores, respectively. They only damaged 10.2% and 7% by weevil. Overall, the derivative ecotypes of Gharaghozloo and Rehnani were identified salt tolerant and are suitable for being grown in saline areas and used in alfalfa breeding programs for development of synthetic alfalfa cultivars.

Keywords: Alfalfa, Ecotype, Salinity stress, Weevil, and Winter dormancy score.

Received: October, 2019 Accepted: August, 2020

1. Assistant Prof., Field and Horticultural Crops Sciences Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Isfahan, Iran (Corresponding author) (Email: masoud.agro.ir@gmail.com)