

مقاله علمی کوتاه

ارزیابی جوانه‌زنی و شاخص‌های رشد گیاهچه سه گونه شبدر (*Trifolium spp.*)
تحت تنش‌های خشکی و شوریفروغ حاجیوند قاسم‌آبادی^۱، حمیدرضا عیسوند^{۲*}، ناصر اکبری^۳، امیدعلی اکبرپور^۲

چکیده مبسوط

مقدمه: کشاورزی جهان به وسیله تنش‌های غیر زیستی مختلفی همچون دما، خشکی و شوری تحت تأثیر قرار گرفته است که تقریباً ۵۰ درصد عملکرد گیاهان زراعی را کاهش می‌دهند. در بسیاری از گیاهان علوفه‌ای جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه از حساس‌ترین مراحل رشدی آن‌ها به تنش‌های محیطی محسوب می‌شوند. پژوهش حاضر برای بررسی تأثیرات تنش‌های ایزو اسمزی خشکی و شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و شاخص‌های رشد سه گونه شبدر ایرانی، لاکي و مصري اجرا شد.

مواد و روش‌ها: دو آزمایش جداگانه خشکی و شوری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سه گونه شبدر شامل شبدر ایرانی، مصري و لاکي و سطوح مختلف پتانسیل‌های خشکی و شوری (صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲- بار) به ترتیب ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و کلرید سدیم بود. از ظروف پتری یکبار مصرف سترون با قطر ۱۰ سانتی‌متر برای این کار استفاده شد که درون هر کدام از آن‌ها ۲۷ عدد بذر به روش روی کاغذ صافی کشت شدند و سپس از محلول‌های ایزو اسمز به میزان ۵ میلی‌لیتر به هر کدام از آن‌ها اضافه شد و سپس ظروف پتری به ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد قرار داده شدند. پس از پایان مدت زمان آزمایش (حدود ۱۴ روز) شاخص‌های جوانه‌زنی آن‌ها شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، تعداد ریشه‌های جانبی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی، نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه و تعداد گیاهچه‌های غیر عادی ثبت شدند.

یافته‌ها: تمام شاخص‌های جوانه‌زنی تحت تأثیر اثرات بازدارنده خشکی و شوری قرار گرفتند. درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با افزایش سطوح تنش کاهش یافتند در حالی که زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی با افزایش سطوح تنش افزایش یافت. تحت هر دو تنش خشکی و شوری تمام شاخص‌های جوانه‌زنی شبدر ایرانی از دو گونه دیگر بیشتر بود. درصد جوانه‌زنی شبدر لاکي در پتانسیل ۱۲- بار خشکی صفر درصد بود، اما درصد جوانه‌زنی شبدر ایرانی و مصري در این سطح از تنش به ترتیب ۷۰/۳۳ و ۷/۳۳ درصد بود. تحت تنش شوری تمام بذرهای هر سه گونه در پتانسیل ۱۲- بار جوانه زدند. نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه در هر دو تنش با افزایش شدت تنش افزایش و در سطوح تنش شدید کاهش یافت که کاهش آن به ترتیب در خشکی و شوری ۵۸/۶۱ و ۱۰۰ درصد بود. تعداد انشعابات ریشه در هر دو تنش با افزایش شدت تنش افزایش و بیشترین میزان آن در شبدر مصري به ترتیب در خشکی و شوری ۵/۴۲ و ۱ بود. تعداد گیاهچه‌های غیر عادی با افزایش شدت تنش شوری افزایش یافت در حالی که تحت تنش خشکی گیاهچه‌های غیر عادی تشکیل نشد.

نتیجه‌گیری: مقایسه اثرات کلرید سدیم و پلی‌اتیلن گلیکول نشان داد که کلرید سدیم به دلیل اثرات سمی یا اسمزی شاخص جوانه‌زنی را بیشتر از محلول پلی‌اتیلن گلیکول کاهش داد. به نظر می‌رسد که شبدر ایرانی در هر دو تنش‌های خشکی و شوری بهترین عملکرد را دارا بود و پس از آن، در شرایط خشکی شبدر مصري و در تنش شوری شبدر لاکي بهترین عملکرد را دارا بودند.

واژه‌های کلیدی: تنش اسمزی، درصد جوانه‌زنی، شبدر، ضریب آلومتری

جنبه‌های نوآوری:

- ۱- بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی گونه‌های شبدر در شرایط ایزواسمزی خشکی و شوری
- ۲- معرفی گونه‌های شبدر مصري و لاکي به ترتیب با تحمل بیشتر به شرایط خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی

DOR: 98.1000/2383-1251.1398.6.145.11.1.1575.1610

DOI: 10.29252/yujs.6.1.145



CrossMark

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
^۲ دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
^۳ استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

*رایانامه نویسنده مسئول: eisvand.hr@lu.ac.ir

مقدمه

شبدر نام عمومی گیاهان جنس *Trifolium* است و شامل حدوداً ۳۰۰ گونه گیاه از خانواده Fabaceae می‌باشد و در واقع شامل گونه‌های متعددی است که در محیط‌هایی متنوع و در سراسر جهان گسترش یافته و قابلیت رشد دارند و از لحاظ خاصیت دارویی و بخصوص از نظر علوفه‌ای و مرتعی دارای ارزش تغذیه‌ای بسیار زیادی هستند. این گونه‌ها به طور چشمگیری در شکل ظاهری، رنگ گل‌ها و همچنین قدمت پیدایش در زمین از یک گونه به گونه دیگر دارای تفاوت هستند (آبرتون و مارشال^۱، ۲۰۰۵).

عوامل محیطی نظیر تنش‌های غیرزیستی مختلفی مانند دما، خشکی و شوری، کشاورزی جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند و برآورد می‌شود تقریباً عامل کاهش ۵۰ درصد عملکرد محصولات زراعی باشند (بویر^۲ و همکاران، ۱۹۸۲). در میان این عوامل، بحران کم آبی یک مشکل مهم است زیرا در نتیجه آن تنش‌های خشکی و شوری ایجاد می‌شود و محصولات زراعی به واسطه هر دو عامل تحت تأثیر قرار می‌گیرند. تنش خشکی معمولاً تمام مراحل رشد گیاه از جمله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. شوری نیز از مهمترین عوامل کاهش رشد و عملکرد گیاهان زراعی به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌شود (رثوف^۳ و همکاران، ۲۰۰۷).

تنش‌های خشکی و شوری به صورت فیزیولوژیک به هم مرتبط هستند، زیرا هر دوی آن‌ها تنش‌های اسمزی در گیاه ایجاد می‌کنند و بسیاری از پاسخ‌های متابولیک گیاهان آسیب دیده از این تنش‌ها در برخی موارد با یکدیگر مشابه هستند (کومار^۴ و همکاران، ۲۰۱۱).

مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی در مراحل مختلف چرخه زندگی متفاوت است و معمولاً در اغلب گیاهان، مرحله ابتدایی رشد به‌عنوان حساس‌ترین مرحله رشدی تلقی می‌شود (اسلامی^۵ و همکاران، ۲۰۰۹)؛

رادسویچ^۶ و همکاران، ۱۹۹۷).

تنش خشکی با کاهش جذب آب و تنش شوری از طریق ایجاد یک پتانسیل اسمزی خارجی که از جذب آب جلوگیری می‌کند و نیز اثرات سمی یون‌های سدیم و کلرید جوانه‌زنی بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد (تورهان و ایاز^۷، ۲۰۰۴). شوری در ابتدا باعث کاهش جذب آب توسط بذرها به دلیل پتانسیل اسمزی منفی محیط شده و در مرحله دوم باعث سمیت، کاهش جذب آب و کاهش مواد غذایی و ایجاد تغییر در فعالیت‌های هورمونی و آنزیمی می‌گردد. سرعت زیاد تجمع نمک در سلول‌های در حال نمو از دلایل حساسیت گیاه به شوری در این مرحله است (هوانگ^۸ و همکاران، ۲۰۰۶).

افزایش جمعیت جهان با کاهش منابع آب شیرین و شور شدن زمین‌های زراعی نیازمند مطالعات بیشتر برای انتخاب گونه‌هایی است که بتوانند در شرایط نامساعد محیطی دوام بیاورند و یک راهکار مناسب برای مقابله با این تنش‌ها، انتخاب گونه‌هایی است که بهتر بتوانند این شرایط نامساعد را تحمل کنند (تیوبروزا و سالوی^۹، ۲۰۰۶). به همین دلیل شبیه سازی شرایط تنش‌های خشکی و شوری با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و کلرید سدیم، برای ارزیابی میزان مقاومت گیاهان در برابر این تنش‌ها می‌تواند یک راهکار مناسب باشد، زیرا این دو ماده برای کاهش پتانسیل آب و نیز ایجاد شرایط خشکی و شوری جهت جلوگیری از جوانه‌زنی در شرایط تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرند (داد و داناوان^{۱۰}، ۱۹۹۹).

جوانه‌زنی که به عنوان اولین مرحله رشد گیاه و یکی از مراحل مهم و حساس در چرخه زندگی گیاه و یک فرایند کلیدی در سبز شدن گیاهچه می‌باشد، به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی به ویژه دما و رطوبت خاک قرار می‌گیرد. آب، یکی از عوامل اصلی فعال کننده جوانه‌زنی است و قابلیت دسترسی به آب با کاهش پتانسیل خاک کاهش می‌یابد. پتانسیل اسمزی، تأثیر

⁶ Radosevich

⁷ Turhan and Ayaz

⁸ Huang

⁹ Tuberosa and Salvi

¹⁰ Dodd and Donovan

¹ Abberton and Marshall

² Boyer

³ Rauf

⁴ Kumar

⁵ Eslami

شد که تنش خشکی طول ریشه‌چه، طول ریشه اصلی، تعداد ریشه‌های جانبی، طول ریشه‌های جانبی و شاخص بنیه ارقام مختلف ذرت را به طور معنی داری کاهش داد (پارتهبان^۸ و همکاران، ۲۰۱۷).

با توجه به اهمیت شناسایی گونه‌ها و ارقام متحمل به تنش‌های خشکی و شوری در جهت افزایش تولید و بهره‌وری در تولید محصولات کشاورزی در اقلیم‌های تنش‌خیز و لزوم بررسی پتانسیل کشت ارقام بومی گیاهان علوفه‌ای و با توجه به موقعیت خشک غالب قطب‌های کشاورزی در ایران، واکنش گیاه شبدر به تنش‌های خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی مورد مطالعه قرار گرفت و هدف این پژوهش بررسی تأثیرات ایزواسمزی خشکی و شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و پارامترهای رشد سه نوع شبدر ایرانی^۹، شبدر مصری^{۱۰} و شبدر لاکي^{۱۱} بود تا به جنبه‌های متفاوت و یا یکسان این دو تنش پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

دو آزمایش جداگانه (خشکی و شوری) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. فاکتور اول شامل سه گونه شبدر شامل شبدر ایرانی، مصری و لاکي و فاکتور دوم شامل محلول‌های تنش‌های اسمزی ناشی از پلی اتیلن گلايکول ۶۰۰۰ و کلرید سدیم با هفت سطح تنش به ترتیب در هر دو تنش خشکی و شوری بودند.

از آن جایی که هدف از این پژوهش بررسی جوانه‌زنی و شاخص‌های وابسته به آن در سطوح پتانسیل‌های ایزواسمزی در هر دو تنش بود، سطوح پتانسیل‌های ذکر شده به ترتیب در هر دو تنش برابر با (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰- و ۱۲- بار) در نظر گرفته شد. بذره‌ای مورد استفاده از شرکت پاکان بذر استان اصفهان تهیه شدند. سطوح تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلايکول بر

مستقیمی بر سرعت جذب آب و در نتیجه سرعت جوانه‌زنی گیاه دارد (مایر و پلیجاکف ماینبر^۱، ۱۹۸۹). فاصله زمانی کاشت تا سبز شدن یکی از فاکتورهای مهم و مؤثر در رشد و متعاقباً عملکرد گیاه زراعی به حساب می‌آید. به نظر می‌رسد بذر به وقوع تنش‌های خشکی و شوری در این دوره به شدت حساس می‌باشد، حال آن‌که تحمل گیاه در برابر خشکی با گذشت زمان و سیر مراحل نمو افزایش می‌یابد (اشرف و رؤف^۲، ۲۰۰۱).

یکی از اهداف متخصصان زراعت و اصلاح نباتات، دستیابی به روشی برای استقرار بهتر گیاهچه محصولات است. اثرات کمبود آب به عوامل چندی از قبیل شدت و تداوم آن و مرحله فنولوژیکی رشد و ظرفیت مقاومت ژنتیکی گیاهان بستگی دارد. وقوع تنش خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی به شدت بر فعالیت بذر اثر گذاشته و تحقیقات زیادی که روی جوانه‌زنی گیاهان مختلف انجام گرفته بیانگر آن است که با افزایش شوری و خشکی شاخص‌های رشد از جمله رشد ریشه‌چه، ساقچه و وزن خشک آن‌ها به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش می‌یابد در بسیاری از گیاهان علوفه‌ای نیز جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، حساس‌ترین مراحل نسبت به تنش‌های محیطی هستند، به همین دلیل اثرات کمبود آب بر رشد و جوانه‌زنی گونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (گریسون^۳، ۲۰۰۱).

در بررسی تأثیرات تنش‌های خشکی و شوری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه خلر^۴ مشخص شد که خشکی و شوری کاهش معنی‌داری در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه خلر ایجاد کردند (قیدری^۵ و همکاران، ۲۰۱۷).

نیست^۶ و همکاران، (۲۰۱۵) بیان نمودند که افزایش شدت تنش شوری کاهش معنی‌داری در جوانه‌زنی بذر و طول ریشه‌چه و ساقچه ارقام شبدر قرمز^۷ ایجاد کرد.

در بررسی تأثیرات تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلايکول ۶۰۰۰ بر ژنوتیپ‌های مختلف ذرت مشخص

¹ Mayer and Polijakoff- Mayber

² Ashraf and Rauf

³ Greipsson

⁴ *Lathyrus sativus* L.

⁵ Gheidary

⁶ Niste

⁷ *Trifolium Pratense* L.

⁸ Partheeban

¹⁰ *Trifolium resupinatum* L.

¹¹ *Trifolium alexandrinum* L.

¹² *Trifolium incarnatum* L.

روابط ۱ و ۲ (آگراوال^۶، ۲۰۰۴) محاسبه شدند.

درصد جوانه‌زنی^۷: بر اساس رابطه (۱) محاسبه شد.
رابطه (۱) $GP = n/N \times 100$

در این رابطه n برابر با تعداد کل بذرهای جوانه‌زده و N تعداد کل بذرهای کشت شده می‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی^۸: بر اساس رابطه (۲) محاسبه شد.
رابطه (۲)

$$GR = \sum \frac{ni}{Di}$$

که در آن ni تعداد بذرهای جوانه زده در پایان روز i ام و Di تعداد روز پس از شروع آزمایش می‌باشد.

زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی^۹

با استفاده از ارزیابی درون خطی از منحنی جوانه‌زنی تجمعی با استفاده از نرم افزار جرمین^{۱۰} محاسبه شد (سلطانی و مداح^{۱۱}، ۲۰۱۰).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 انجام شد و مقایسات میانگین آن‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام شد. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

اثرات تنش‌های خشکی و شوری، گونه و اثرات متقابل گونه در تنش‌های خشکی و شوری بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲).

تحت تنش خشکی، بالاترین درصد جوانه‌زنی در هر سه گونه در پتانسیل صفر (شاهد) مشاهده شد که میزان آن به ترتیب برای شبدر ایرانی، مصری و لاکی ۱۰۰، ۱۰۰ و ۹۸ درصد بود، اما در پتانسیل ۱۲- بار، بالاترین و پایین‌ترین درصد جوانه‌زنی در شبدر ایرانی و شبدر

مبنای رابطه میشل و کافمن^۱، (۱۹۷۳) بر اساس رابطه $\Psi_s = -(1.18 \times 10^{-2}) C - (1.18 \times 10^{-4}) C^2 + (2.67 \times 10^{-4}) CT + (8.39 \times 10^{-7}) C^2 T$

در فرمول فوق C ، نشان دهنده غلظت PEG6000 برحسب گرم بر کیلوگرم آب، T نشان دهنده دما برحسب درجه سانتیگراد و Ψ_s پتانسیل اسمزی محلول می‌باشد. همچنین سطوح تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر مبنای رابطه وانت هوف^۲ محاسبه شدند که در این فرمول، Ψ_s پتانسیل اسمزی بر حسب مگاپاسکال، m مولاریته محلول، i فاکتور یونی‌زاسیون، R ثابت گازها و T دما (برحسب کلونین) هستند (وستون^۳، ۱۹۹۴).

$\Psi_s = -miRT$

قبل از شروع آزمایش بر اساس استانداردهای (ایستا^۴، ۲۰۱۶)، قدرت جوانه‌زنی و یا قوه نامیه بذرها با آزمون جوانه‌زنی استاندارد مورد آزمون قرار گرفت که برای گونه‌های شبدر ایرانی و مصری ۱۰۰ درصد و برای شبدر لاکی ۹۸ درصد بود. بذرها در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ به مدت سه دقیقه ضد عفونی سطحی شده و سپس سه بار با آب مقطر شسته شدند. از ظروف پتری یکبار مصرف سترون با قطر ۱۰ سانتی‌متر برای این کار استفاده شد که درون هر کدام از آن‌ها ۲۷ عدد بذر به روش روی کاغذ صافی^۵ کشت شدند و سپس از محلول‌های ایزو اسمز به میزان ۵ میلی‌لیتر به هر کدام از آن‌ها اضافه شد و سپس ظروف پتری به ژرminatور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد و رژیم نوری متناوب ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داده شدند. معیار جوانه‌زنی خروج ۲ میلی‌متری ریشه‌چه از پوسته بذر در نظر گرفته شد. پس از پایان مدت زمان آزمایش (حدود ۱۴ روز) به تصادف از هر پتری ۱۰ گیاهچه انتخاب و شاخص‌های جوانه‌زنی آن‌ها شامل طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، تعداد ریشه‌های جانبی، نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه و تعداد گیاهچه‌های غیر عادی ثبت شدند. همچنین شاخص‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی نیز بر اساس

⁶ Agrawal

⁷ Germination percentage

⁸ Germination rate

⁹ D50

¹⁰ Germin

¹¹ Soltani and Maddah

¹ Michel and Kaufman

² Vant Hoff

³ Weston

⁴ ISTA

⁵ Top of paper

جدول ۱. تجزیه واریانس برای صفات جوانه‌زنی سه گونه شبدر تحت تنش خشکی

Table 1. Analysis of variance for germination traits of three clover species under drought conditions

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	Mean square			میانگین مربعات		نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	زمان تا ۵۰٪ جوانه‌زنی D50	تعداد انشعابات فرعی ریشه Number of secondary roots		
خشکی (A)	Drought (A)	6	6828.91**	732.99**	15.533**	15.247**	3.291**
گونه (B)	Species (B)	2	6430.42**	312.90**	13.757**	138.38**	2.386**
خشکی×گونه	A×B	12	808.55**	27.855**	2.560**	1.277**	2.478**
خطا	Error	42	8.539	0.386	0.011	0.12	0.08
ضریب تغییرات (%)	CV (%)		3.90	3.64	2.29	10.29	16.34

**Significantly at a probability level of one percent

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

جدول ۲. تجزیه واریانس برای صفات جوانه‌زنی سه گونه شبدر تحت تنش شوری

Table 2. Analysis of variance for germination traits of three clover species under salinity conditions

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	Mean squares			میانگین مربعات		نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S	
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Rate of germination	زمان تا ۵۰٪ جوانه‌زنی D50	تعداد گیاچه‌های غیرعادی Abnormal seedlings	تعداد انشعابات فرعی ریشه Number of secondary roots		
شوری (A)	Salinity (A)	6	7890.32**	748.96**	7.195**	49.693**	6.328**	2.4314**
گونه (B)	Species (B)	2	3274.77**	203.025**	2.244**	53.634**	4.338**	0.8348**
شوری×گونه	A×B	12	275.68**	857.19**	0.933**	9.931**	0.791**	0.0666**
خطا	Error	42	3.603	2.436	1.733	0.126	0.0093	0.0003
ضریب تغییرات (%)	CV (%)		2.68	9.39	27.30	18.10	13.95	1.66

**Significant at a probability level of one percent

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

برای کاهش جوانه‌زنی بذر در شرایط تنش خشکی باشد. تنش شوری هم با کاهش آب قابل دسترس بذر، باعث القای خواب اجباری و کاهش جوانه‌زنی بذر می‌شود (ضیا و خان^۱، ۲۰۰۴). افزایش شوری سبب جذب یون‌های سدیم و کلر می‌شود که جذب این یون‌ها علاوه بر سمیت، سبب اختلال در متابولیسم سایر عناصر غذایی نیز می‌شوند که از آن جمله می‌توان به رقابت یون سدیم با پتاسیم و یون کلر با نیترات اشاره کرد که

لاکی مشاهده شد که میزان آن‌ها به ترتیب (۷۰/۳۳ و صفر) درصد بود. در تنش شوری، در شاهد اختلاف معنی‌داری بین جوانه‌زنی گونه‌ها مشاهده نشد، در حالی‌که در پتانسیل ۱۲- بار، بالاترین و پایین‌ترین میزان جوانه‌زنی در شبدر ایرانی و شبدر مصری مشاهده شد که میزان آن‌ها به ترتیب ۳۹/۶۶ و ۴ درصد بود (جدول ۳ و ۴). بر اساس نتایج به دست آمده درصد جوانه‌زنی در هر دو تنش خشکی و شوری با افزایش سطوح تنش به طور معنی‌داری کاهش یافت. عدم جذب آب کافی در مرحله آبنوشی می‌تواند دلیل اصلی

¹ Zia and Khan

جدول ۳. تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات جوانه‌زنی سه گونه شبدر

Table 3. Effect of different drought (PEG-6000) stress levels on seedling traits of three clover species

گونه‌ها	Species	تنش خشکی (بار)	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (بذر بر روز)	زمان تا ۵۰٪ جوانه‌زنی	تعداد انتشعابات ریشه	نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه
		Drought (bar)	Germination percentage	Germination rate (Seed/day)	D50 (h)	Number of secondary roots	R/S
شبدر ایرانی	<i>T. resupinatum</i>	0	100 ^a	27 ^a	12 ^{ef}	0 ^l	1.65 ^{defg}
		-2	100 ^a	26.53 ^{abc}	12.32 ^{ef}	0 ^l	1.66 ^{defg}
		-4	100 ^a	26 ^{abc}	12.64 ^{ef}	0 ^l	1.69 ^{def}
		-6	100 ^a	23.44 ^d	15.35 ^e	0.33 ^l	1.72 ^{cdef}
		-8	92.66 ^b	19.51 ^e	18.48 ^e	0.46 ^l	1.91 ^{cde}
		-10	76.33 ^d	12.42 ^g	35.48 ^d	1.16 ^k	2.19 ^c
شبدر مصری	<i>T. alexandrinum</i>	-12	70.33 ^e	10.51 ^h	53.95 ^c	1.53 ^k	3.10 ^b
		0	100 ^a	26.83 ^{ab}	12.15 ^{ef}	3.33 ^h	1.13 ^{ij}
		-2	100 ^a	25.70 ^c	12.47 ^{ef}	4.16 ^g	1.16 ^{hi}
		-4	100 ^a	24.11 ^d	14.65 ^e	4.50 ^{fg}	1.19 ^{ghi}
		-6	88 ^b	19.56 ^e	15.08 ^e	5.43 ^e	1.60 ^{defgh}
		-8	76 ^d	14.57 ^f	17.26 ^e	6.23 ^{cd}	1.82 ^{cdef}
شبدر لاکه	<i>T. incarnatum</i>	-10	65 ^f	10.58 ^h	18.63 ^e	6.63 ^{bc}	1.90 ^{cde}
		-12	7.33 ^j	0.18 ^j	242 ^a	7.70 ^a	0.66 ^j
		0	100 ^a	25.62 ^c	12.63 ^{ef}	2.16 ^j	1.42 ^{fghi}
		-2	99 ^a	25.97 ^{bc}	12.48 ^{ef}	2.70 ^{ij}	1.45 ^{efghi}
		-4	81.66 ^c	20.53 ^e	13.21 ^{ef}	2.93 ^{hi}	1.46 ^{efghi}
		-6	58.33 ^g	11.25 ^h	18 ^e	3.93 ^g	1.82 ^{cdef}
-8	41.66 ^h	7.21 ⁱ	40.47 ^{cd}	4.76 ^f	1.94 ^{cd}		
-10	16.33 ⁱ	0.91 ^j	182.4 ^b	6.03 ^d	4.97 ^a		
-12	-	-	-	-	-	-	

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.

Averages with similar letters in each column based on LSD test did not show significant difference at the level of 0.05

- نشان دهنده عدم تشکیل گیاهچه در گونه شبدر لاکه در پتانسیل ۱۲- بار

- Indicates the absence of seedlings in Lacquerous clover in a -12 bar potential

گونه‌ها جوانه زدند. در واقع به نظر می‌رسد بازدارندگی پلی‌اتیلن گلیکول از کلرید سدیم در این سطح از تنش بیشتر بود. این نتایج با یافته‌های (موریلو آمادور^۲ و همکاران، ۲۰۰۲) مطابقت داشت که خشکی و شوری می‌توانند جوانه‌زنی را با کاهش جذب آب تحت تأثیر قرار دهند. میشل و کافمن، (۱۹۷۳) بیان کردند که ملکول‌های پلی‌اتیلن گلیکول به علت بزرگی نمی‌توانند از دیواره سلولی عبور کرده و وارد بذر شوند و در نتیجه فاقد اثر سمی بر جوانه‌زنی بذر می‌باشند. در واقع تنش

موجب اختلال در جذب عناصر غذایی پتاسیم و نیترات می‌شود. این امر بر فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه از جمله درصد جوانه‌زنی تأثیر منفی می‌گذارد و در واقع کاهش پتانسیل آب سلول باعث کاهش فشار آستانه یا فشار تورگر برای حفظ آماس سلولی و تداوم رشد و جوانه‌زنی سلول می‌شود (حسینی و رضوانی‌مقدم، ۲۰۰۶).

در تنش خشکی حاصل از پلی‌اتیلن گلیکول در پتانسیل ۱۲- بار، بذرهای گونه شبدر لاکه جوانه‌زنی نداشتند ولی در تنش شوری در پتانسیل ۱۲- بار همه

² Murillo-Amador

¹ Hosseini and Rezvani Moghadam

جدول ۴. تأثیر سطوح مختلف تنش شوری بر صفات جوانه‌زنی سه گونه شبدر

Table 4. Effect of different salinity (NaCl) stress levels on seedling traits of three clover species

گونه‌ها	Species	تنش شوری (بار)	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (بذر بر روز)	زمان تا ۵۰٪ جوانه‌زنی	گیاهچه‌های غیر عادی	تعداد انشعابات ریشه	نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه
		Salinity (bar)	Germination percentage	Germination rate (Seed/day)	D50 (h)	Abnormal seedling	Number of secondary roots	R/S
شبدر ایرانی	<i>T. resupinatum</i>	0	100 ^a	27 ^a	12 ^d	0 ^f	0 ^g	1.50 ^d
		-2	100 ^a	27 ^a	12 ^d	0 ^f	0 ^g	1.52 ^d
		-4	100 ^a	27 ^a	12 ^d	0 ^f	0 ^g	1.56 ^c
		-6	98.66 ^a	24.67 ^a	14.69 ^d	0 ^f	0 ^g	1.74 ^a
		-8	89 ^b	19.19 ^{bc}	16.64 ^d	0 ^f	0.55 ^e	1.71 ^b
		-10	60.66 ^e	9.80 ^{de}	29.97 ^c	1.33 ^e	0.65 ^e	1 ^{jk}
		-12	39.66 ^h	6.12 ^{fg}	49.31 ^b	0 ^f	0 ^g	*
شبدر مصری	<i>T. alexandrinum</i>	0	100 ^a	26.83 ^a	12.15 ^d	0 ^f	0 ^g	0.98 ^k
		-2	98.66 ^a	25.50 ^a	12.48 ^d	0 ^f	0 ^g	1.03 ⁱ
		-4	83.66 ^c	18.31 ^{bc}	16.40 ^d	1.66 ^e	0.36 ^f	1.08 ^h
		-6	57 ^f	11.65 ^d	17.81 ^{cd}	5.66 ^c	1.63 ^d	1.37 ^{ef}
		-8	43 ^g	8.60 ^{ef}	17.16 ^{cd}	7.33 ^b	2.30 ^b	0.95 ^l
		-10	28.66 ⁱ	4.46 ^g	20.46 ^{cd}	8.33 ^a	2.70 ^a	0.83 ^m
		-12	4 ^k	3.79 ^g	180 ^a	0 ^f	0 ^g	*
شبدر لاکه	<i>T. incarnatum</i>	0	100 ^a	26.10 ^a	12.44 ^d	0 ^f	0 ^g	1.30 ^g
		-2	99 ^a	26.27 ^a	12.47 ^d	0 ^f	0 ^g	1.35 ^f
		-4	86.33 ^{bc}	20.86 ^b	13.47 ^d	0.33 ^f	0.31 ^f	1.39 ^e
		-6	72.66 ^d	16.64 ^c	15.50 ^d	4.33 ^d	1.51 ^d	1.55 ^c
		-8	60.33 ^e	11.73 ^d	17.15 ^{cd}	5.33 ^c	2.13 ^c	1.01 ^{ij}
		-10	39.66 ^h	6.36 ^{fg}	22.99 ^{cd}	7 ^b	2.40 ^b	0.77 ⁿ
		-12	22 ^j	1 ^h	176 ^a	0 ^f	0 ^g	*

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری ندارند. * عدم محاسبه نسبت طولی

ریشه‌چه به ساقه‌چه در نتیجه عدم تشکیل گیاهچه در این سطح تنش در گونه‌های مورد نظر

Averages with similar letters in each column based on LSD test did not show significant difference at the level of 0.05. Failure to calculate the root-to-shoot ratio of the root-to-root ratio as a result of no seedling formation at this stress level in the species

بر اساس تجزیه واریانس، اثرات تنش خشکی و شوری، گونه و اثرات متقابل گونه در تنش‌های خشکی و شوری بر سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جداول ۱ و ۲). مقایسه سرعت جوانه‌زنی تحت تنش خشکی و شوری بر اساس معادلات رگرسیونی در شکل ۱ نشان داد که در هر دو تنش خشکی و شوری، سرعت جوانه‌زنی در پتانسیل ۴- بار و

خشکی اثر منفی‌تری بر جوانه‌زنی گونه شبدر لاکه داشت اما بر اساس نمودار رگرسیون شکل ۱ مشخص شد که در مجموع در هر سه رقم شبدر کلرید سدیم شاخص جوانه‌زنی را بیشتر از محلول پلی‌اتیلن گلیکول کاهش داد.

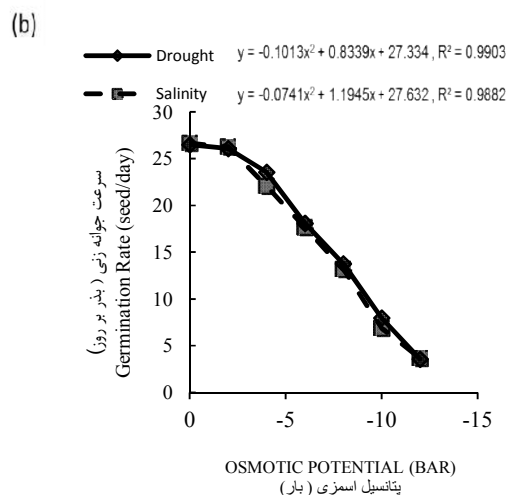
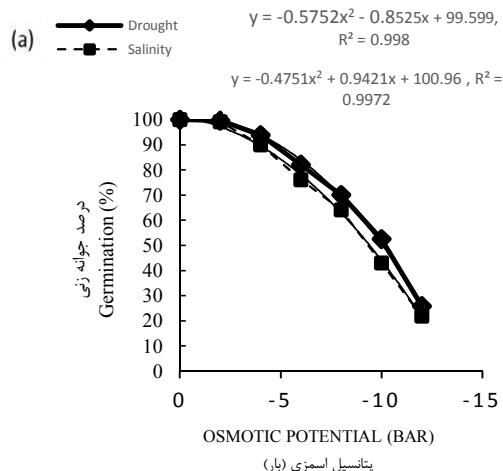
سرعت جوانه‌زنی

اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت، اما میزان کاهش آن از پتانسیل ۴- بار به بعد برای هر دو گونه نسبت به سایر سطوح تنش اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۴).

تحت هر دو تنش خشکی و شوری، سرعت جوانه‌زنی با افزایش سطوح تنش کاهش یافت و بیشترین میزان آن در هر دو تنش در پتانسیل‌های صفر و ۱۲- بار در شبدر ایرانی مشاهده شد که میزان آن به ترتیب برای این گونه در خشکی ۲۷ و ۱۰/۵۱ بذر در روز و در شوری ۲۷ و ۶/۱۲ بذر در روز بود که نسبت به دو گونه دیگر بالاتر بود (جدول ۳ و ۴).

آسکی^۱ (۲۰۱۱) در بررسی تأثیر تنش شوری بر جوانه‌زنی ۲۸ رقم شبدر قرمز و مازکولو و همکاران، (۲۰۱۴) در بررسی تأثیر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول بر جوانه‌زنی ۴ ژنوتیپ عدس به این نتیجه رسیدند که شاخص‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی کلیه ارقام با افزایش سطوح تنش کاهش یافت. از سویی دیگر، تحت تنش شدید در شوری بذرهای جوانه زدند ولی گیاهچه تشکیل ندادند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت مرحله گیاهچه‌ای گونه‌های مورد بررسی نسبت به مرحله جوانه‌زنی به تنش شوری حساس‌تر است.

درصد جوانه‌زنی به تنهایی معرف کیفیت فیزیولوژیک بذر نیست، از این رو بررسی صفاتی همچون سرعت جوانه‌زنی ضروری می‌باشد. درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی به طور مستقیم با یکدیگر در ارتباط هستند، بنابراین با کاهش درصد جوانه‌زنی به طور طبیعی سرعت جوانه‌زنی نیز کاهش می‌یابد و به نظر می‌رسد که این کاهش مربوط به تخریب نشاسته و پروتئین بذر باشد (مک دونالد^۲ و همکاران، ۱۹۹۹). در واقع اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی داخل بذر به آرامی صورت می‌گیرد، در نتیجه مدت زمان خروج ریشه‌چه از بذر افزایش و از این رو سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (آبنوس^۴، ۲۰۰۱).



شکل ۱. نمودار رگرسیون مقایسه درصد (الف) و سرعت جوانه‌زنی (ب) بطور میانگین بین سه گونه شبدر تحت تنش‌های ایزواسمزی خشکی و شوری

Fig. 1. Regression diagrams comparison of germination percentage (a) and germination rate (b), over three clover species under drought and salinity iso-osmotic potentials (R^2 at 95% confidence interval).

سطوح تنش پایین‌تر از آن به طور معنی‌داری کاهش یافت (R^2 در فاصله اطمینان ۹۵ درصد به ترتیب در خشکی و شوری ۹۹٪ و ۹۸٪ به دست آمد).

سرعت جوانه‌زنی در شبدر ایرانی در تنش شوری در پتانسیل ۶- بار اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت اما در پتانسیل‌های اسمزی پایین‌تر از آن کاهش یافت. در حالی‌که در شبدر مصری و لاک‌ی در پتانسیل ۲- بار

¹ Ascii

² Muscolo

³ McDonald

⁴ Abnous

زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی (D50)

اثرات تنش خشکی و شوری، گونه و اثرات متقابل گونه در تنش‌های خشکی و شوری بر زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). در هر دو تنش خشکی و شوری با افزایش سطوح تنش میزان D50 افزایش پیدا کرد (شکل ۲).

تحت تنش خشکی، در شاهد، بالاترین میزان آن ۱۲/۶۳ ساعت و مربوط به گونه شبدر لاکه و کمترین اختلاف آن‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار بود. در پتانسیل ۱۲- بار نیز بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب ۱۸۰ و ۴۹/۳۱ ساعت مربوط به شبدر مصری و شبدر ایرانی بود که اختلاف آن‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار بود. تحت هر دو تنش خشکی و شوری D50 در پتانسیل ۲- بار اختلاف معنی‌داری با پتانسیل صفر (شاهد) نداشت (جدول ۳ و ۴).

میانگین زمان جوانه‌زنی هم با کاهش پتانسیل اسمزی افزایش پیدا کرد و زمان بیشتری برای جوانه‌زنی صرف شد و تنش‌های اسمزی بر آن تأثیرگذار بوده است. کشتیبان^۱ و همکاران (۲۰۱۵) اذعان داشت که میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذر صفت بسیار مهمی در استقرار گیاهچه و استفاده مؤثر از شرایط محیطی می‌باشد. تنش‌های خشکی و شوری از طریق کاهش جذب آب و اثر سمیت یونی باعث تحت تأثیر قرار گرفتن فرایندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی شده و منجر به کاهش رشد گیاهچه و تأخیر در مدت زمان جوانه‌زنی می‌شوند.

تعداد انشعابات فرعی ریشه

بر اساس تجزیه واریانس، اثرات تنش خشکی و شوری، گونه و اثرات متقابل گونه در تنش‌های خشکی و شوری بر این صفت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲).

تحت تنش شوری به استثنای پتانسیل ۱۲- بار که در آن گیاهچه تشکیل نشد، تعداد انشعابات فرعی ریشه در هر سه گونه با افزایش سطوح تنش افزایش یافت، گرچه در شبدر ایرانی فقط در پتانسیل‌های ۸- و ۱۰-

بار و در گونه‌های شبدر مصری و لاکه در پتانسیل ۴- بار و پایین‌تر از آن، این انشعابات مشاهده شد. در پتانسیل ۱۰- بار نیز، بیشترین تعداد انشعابات ریشه در شبدر مصری و شبدر لاکه مشاهده شد که میزان آن‌ها به ترتیب ۲/۷۰ و ۲/۴۰ بود.

تحت تنش خشکی، انشعابات ریشه در شبدر ایرانی در پتانسیل ۶- بار و پایین‌تر از آن تشکیل شد. در شاهد و در پتانسیل ۱۲- بار بیشترین میزان انشعابات ریشه در شبدر مصری مشاهده شد که میزان آن‌ها به ترتیب ۳/۳۳ و ۷/۷۰ بود. در پتانسیل ۱۲- بار نیز کمترین میزان این انشعابات مربوط به شبدر ایرانی بود که میزان آن ۱/۵۳ بود.

به طور کلی انشعابات فرعی ریشه در تنش خشکی نسبت به تنش شوری در هر سه گونه بیشتر بود (جدول ۳ و ۴). سیستم‌های ریشه‌ای قوی در گیاه عامل مهمی است که آب و مواد غذایی را برای گیاه فراهم می‌کند. افزایش نقاط ورودی در ریشه باعث افزایش سطح جذب شده و کارایی جذب آب و عناصر غذایی افزایش می‌یابد. در واقع بسیاری از گیاهان در مقابله با تنش‌های خشکی و شوری اقدام به گسترش اندام‌های زیر زمینی خود می‌کنند تا با افزایش جذب آب گیاه را در مواجهه با تنش حفظ کنند (گنجعلی و باقری^۲، ۲۰۱۱).

گیاهچه‌های غیر عادی

تحت تنش خشکی گیاهچه غیر عادی تشکیل نشد، اما در تنش شوری اثرات تنش، گونه و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). در پتانسیل صفر (شاهد) هیچ یک از گونه‌ها گیاهچه غیر عادی تشکیل ندادند. در پتانسیل ۱۰- بار، در هر سه گونه بیشترین میزان گیاهچه‌های غیر عادی تشکیل شد و بیشترین میزان آن در این سطح از تنش مربوط به گونه شبدر مصری و کمترین میزان آن مربوط به شبدر ایرانی بود. در پتانسیل ۱۲- بار نیز هیچ یک از گونه‌ها گیاهچه‌ای تشکیل ندادند و در نتیجه گیاهچه غیر عادی تشکیل نشد. در گونه‌های شبدر مصری و شبدر لاکه در پتانسیل ۴- بار و پتانسیل‌های پایین‌تر از

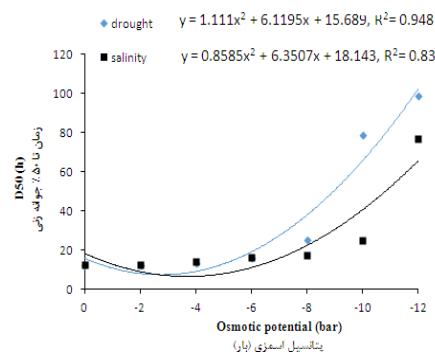
² Ganjeali and Bagheri¹ Keshtiban

تحت تنش خشکی نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه با افزایش سطوح تنش تا پتانسیل ۱۰- بار افزایش و سپس کاهش یافت، در حالی که تحت تنش شوری این نسبت تا پتانسیل ۶- بار افزایش و سپس کاهش یافت (جدول ۳ و ۴).

در شاهد (پتانسیل صفر)، در هر دو تنش خشکی و شوری بیشترین میزان این نسبت در شبدر ایرانی مشاهده شد که میزان آن به ترتیب ۱/۶۵ و ۱/۵۰ بود. در پتانسیل ۱۲- بار در تنش خشکی، نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه در گونه شبدر لاک‌ی و در تنش شوری در تمام گونه‌ها به دلیل عدم جوانه‌زنی و عدم تشکیل گیاهچه اندازه‌گیری نشد (جدول ۳ و ۴). یکی از پارامترهایی که تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه است سینگ و ساکسنا^۲ (۱۹۹۳). آزمایش‌های مختلف بیانگر این مطلب است که در اثر تنش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه هر دو کاهش ولی نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه افزایش می‌یابد، دلیل آن این است که در شرایط تنش ارقام مقاوم در مراحل اولیه تنش از سرعت رشد ریشه بالاتری برخوردارند (دی و کار^۳، ۱۹۹۵).

در مراحل اولیه تنش سرعت رشد ریشه‌چه به دلیل حساسیت کمتر آن به تنش و به منظور افزایش جذب آب بیشتر می‌باشد (کافی^۴ و همکاران، ۲۰۰۵). در این پژوهش در هر دو تنش خشکی و شوری طول ریشه‌چه و ساقه‌چه کاهش یافت ولی میزان کاهش آن برای ساقه‌چه بیشتر بود، در نتیجه نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه افزایش و در سطوح بالای تنش به دلیل عدم قابلیت تشکیل گیاهچه این نسبت کاهش یافت.

دلیل این امر کاهش جذب آب یا تجمع یون‌های سمی در واکنش سلول می‌باشد، از سوی دیگر گیاهان برای تحمل تنش به تنظیم اسمزی نیاز دارند و یکی از راه‌های تنظیم اسمزی ساخت مواد آلی مانند پرولین، بتائین و سوربیتول در بافت‌هاست، بیوسنتز این ملکول‌ها با صرف انرژی همراه است و لذا انرژی مصرفی برای ساخت آن‌ها باعث کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه



شکل ۲. نمودار رگرسیون مقایسه زمان تا ۵۰٪ جوانه‌زنی بطور میانگین بین سه گونه شبدر تحت تنش‌های ایزواسمزی خشکی و شوری

Fig. 2. Regression diagram comparison of D50 averaged over three clover species under drought and salinity iso-osmotic potentials (R^2 at 95% confidence interval).

آن گیاهچه‌های غیر عادی مشاهده شدند. کمترین میزان گیاهچه‌های غیر عادی مربوط به شبدر ایرانی بود (جدول ۴).

در تنش شوری اثر سمیت یونی می‌تواند سبب تشکیل گیاهچه‌های غیر عادی شود. در واقع تأثیرات تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر می‌تواند فعالیت‌های هورمونی و آنزیمی آن را تغییر دهد.

شوری از طریق ایجاد یک پتانسیل اسمزی خارجی که از جذب آب جلوگیری می‌کند و نیز اثرات سمی یون‌های Na^+ و Cl^- بر جوانه‌زنی بذر تأثیر می‌گذارد چون تجمع این یون‌های مضر در سیتوپلاسم، در متابولیسم عناصر ضروری مورد نیاز رشد گیاهچه اختلال ایجاد کرده و در نتیجه باعث تشکیل گیاهچه‌های غیر عادی می‌شود (سیار^۱ و همکاران، ۲۰۱۰).

نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه (ضریب آلومتری)

اثرات تنش خشکی و شوری، گونه و اثرات متقابل گونه در تنش‌های خشکی و شوری بر نسبت طولی ریشه‌چه به ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲).

² Singh and Saxena

³ De and Kar

⁴ Kafi

¹ Sayar

می‌شود (پنیولاس^۱ و همکاران، ۱۹۹۷).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش‌های خشکی و شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی بذرهای گونه‌های شبدر تأثیر دارد، به طوری که با افزایش شدت تنش شاخص‌های جوانه‌زنی و طول گیاهچه آن‌ها کاهش می‌یابد. این مسئله عمدتاً ناشی از کاهش پتانسیل اسمزی بر اثر تنش خشکی و نیز کاهش پتانسیل آب و سمیت خاص یون‌های سدیم و کلر ناشی از تنش شوری می‌باشد. مقایسه تأثیرات منفی ناشی از کلرید سدیم و پلی‌اتیلن‌گلیکول نشان داد که کلرید سدیم به دلیل تأثیرات سمی ناشی از یون‌های Na^+ و Cl^- شاخص‌های جوانه‌زنی را بیشتر از محلول پلی‌اتیلن گلیکول کاهش داد. بیشترین میزان درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت شرایط هر دو تنش مربوط به گونه شبدر ایرانی بود. پس از گونه شبدر ایرانی بیشترین میزان شاخص‌های ذکر شده

تحت خشکی متعلق به گونه شبدر مصری و در تنش شوری متعلق به گونه شبدر لاکمی بود. تحت تنش شوری همه گونه‌ها در پتانسیل ۱۲- بار نیز جوانه زدند ولی گیاهچه تشکیل ندادند، در حالی که تحت تنش خشکی گونه‌هایی که در پتانسیل ۱۲- بار جوانه زدند تشکیل گیاهچه دادند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مرحله گیاهچه‌ای گونه‌های مورد نظر نسبت به مرحله جوانه‌زنی آن‌ها به تنش شوری حساس‌تر است. در سطوح پایین تنش اختلاف معنی‌داری بین جوانه‌زنی گونه‌ها مشاهده نشد، اما تأثیرات بازدارنده تنش‌های خشکی و شوری در سطوح بالای تنش متفاوت بود، این اختلاف‌ها می‌تواند ناشی از اختلاف در پتانسیل اسمزی مورد نیاز هر گونه که در آن جوانه‌زنی امکان‌پذیر می‌باشد، در نظر گرفته شود. در نظر گرفتن تأثیرات بازدارنده پلی‌اتیلن گلیکول و کلرید سدیم بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه این گونه‌ها برای انتخاب گونه‌های مقاوم برای کاشت در مناطق با شرایط نامساعد محیطی بسیار مهم است.

منابع

- Abberton, M.T., and Marshall, A.H. 2005. Progress in breeding perennial clovers for temperate agriculture. *The Journal of Agricultural Science*, 143(2-3): 117-135. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005101>
- Abnous, M. 2001. Evaluation of physiological stress on germination and seedling start lentil cultivars. M.Sc. thesis, plant physiologist. Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, 147 p. [In Persian].
- Agrawal, R.L. 2004. Seed technology. Oxford and IBH publishing co. LTD. New Delhi.
- Asci, O.O. 2011. Salt tolerance in red clover (*Trifolium pratense* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 10(44): 8774-8781. <https://doi.org/10.5897/AJB11.596>
- Ashraf, M., and Rauf, H. 2001. Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) through seed priming with chloride salts: Growth and ion transport at early growth stages. *Acta Physiologiae Plantarum*, 23(4): 407-414. <https://doi.org/10.1007/s11738-002-0037-1>; <https://doi.org/10.1007/s11738-001-0050-9>
- Boyer, J.S. 1982. Plant Productivity and Environment Science. *Science*, 218: 443-448. <https://doi.org/10.1126/science.218.4571.443>
- De, R., and Kar, R. 1995. Seed germination and seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*) under water stress induced by PEG-6000. *Seed Science and Technology*, 23(2): 301-308.

¹ Penuelas

- Dodd, G.L. and Donovan, L.A. 1999. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *American Journal of Botany*, 86: 1146-1153. <https://doi.org/10.2307/2656978>
- Eslami, S.V., Behdani, M.A., and Ali, S. 2009. Effect of salinity on germination characteristics and early seedling growth of canola cultivars (*Brassica napus* L.). *Environmental Stresses in Agricultural Sciences*, 1(1): 39-46. [In Persian with English Summary].
- Ganjeali, A., and Bagheri, A. 2011. Evaluation of morphological characteristics of root chickpea (*Cicer arietinum* L.) in response to drought stress. *Iranian Journal of Pulses Research*, 1(2): 101-110. [In Persian with English Summary].
- Gheidary, S., Akhzari, D., and Pessaraki, M. 2017. Effects of salinity, drought, and priming treatments on seed germination and growth parameters of *Lathyrus sativus* L. *Journal of Plant Nutrition*, 40(11): 1507-1514. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1269349>
- Greipsson, S. 2001. Effects of stratification and GA₃ on seed germination of a sand stabilising grass *Leymus arenarius* used in reclamation. *Seed Science and Technology*, 29: 1-10.
- Hosseini, H., and Rezvani Moghadam, P. 2006. Effects of drought and salinity on germination of *Plantago ovata*. *Iranian Journal of Agronomy Research*, 4(1): 15-22. [In Persian With English Summary].
- Huang, Y., Zhang, G., Wu, F., Chen, J., and Zhou, M. 2006. Differences in physiological traits among salt stressed barley genotypes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 37(3-4): 557-570. <https://doi.org/10.1080/00103620500449419>
- ISTA, 2016. ISTA certificates. International rules for seed testing. Association (ISTA), Zurichstr. 50, CH-8303. Bassersdorf. Switzerland. <https://doi.org/10.15258/istarules.2016.01>
- Kafi, M., Nezami, A., Hosaini, H., and Masomi, A. 2005. Physiological effects of drought stress by polyethylene glycol on germination of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 3(1): 69-80. [In Persian with English Summary].
- Keshtiban, R.K., Carvani, V., and Imandar, M. 2015. Effects of salinity stress and drought due to different concentrations of sodium chloride and polyethylene glycol 6000 on germination and seedling growth characteristics of pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Advances in Environmental Biology*, 9(5): 229-235.
- Kumar, R.R., Karjol, K., and Naik, G. 2011. Variation of sensitivity to drought stress in pigeon pea (*Cajanus cajan* [L.] Millsp) cultivars during seed germination and early seedling growth. *World Journal of Science and Technology*, 1: 11-18.
- Mayer, A.M., and Polijakoff-Mayber, A. 1989. *The Germination of Seeds*. 4th (Edn). Pergamo Press. Oxford, London, 270 p.
- McDonald, C.M., Floyd, C.D. and Waniska, R.D. 1999. Effect of accelerated aging on maize and sorghum. *Journal of Cereal Science*, 39: 351-301. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2004.01.001>
- Michel, B.E., and Kaufman, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51: 914-916. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>
- Murillo Amador, B., López Aguilar, R., Kaya, C., Larrinaga Mayoral, J., and Flores Hernández, A. 2002. Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on germination, emergence and seedling growth of cowpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188: 235-247. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037X.2002.00563.x>
- Muscolo, A., Sidari, M., Anastasi, U., Santonoceto, C., and Maggio, A. 2014. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. *Journal of Plant Interactions*, 9(1): 354-363. <https://doi.org/10.1080/17429145.2013.835880>
- Niste, M., Vidican, R., Stolan, V., Berindean, I., Criste, A., Miclfa, R., and Pop, R. 2015. The

- effect of salinity stress on seed germination of red clover (*Trifolium pratense* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture, 72(2): 447-452. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-agr:11706>
- Partheeban, C., Chandrasekhar, C., Jeyakumar, P., Ravikesavan, R., and Gnanam, R. 2017. Effect of PEG induced drought stress on seed germination and seedling characters of maize (*Zea mays* L.) genotypes. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6: 1095-1104. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.119>
- Penuelas, J., Isla, R., Filella, I., and Araus, J.L. 1997. Visible and near-infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. Crop Science, 37: 198-202. <https://doi.org/10.2135/cropsci1997.0011183X003700010033x>
- Radosevich, S.R., Holt, J.S., and Ghersa, C., 1997. Weed ecology: implications for management. John Wiley & Sons., New York.
- Rauf, M., Munir, M., ul Hassan, M., Ahmad, M., and Afzal, M. 2007. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. African Journal of Biotechnology, 6(8): 971-975.
- Sayar, R., Bchini, H., Mosbahi, M., and Ezzine, M. 2010. Effects of salt and drought stresses on germination emergence and seedling growth of durum wheat (*Triticum durum* Desf). African Journal of Agriculture Research, 5(15): 2008-2016.
- Singh, K., and Saxena, M.C. 1993. Breeding For Stress Tolerance In Cool-Season Food Legumes. Wiley Chichester, UK.
- Soltani, A., and Maddah, V. 2010. Simple Applied Programs for Education and Research in Agronomy. ISSA press, 283 p. [In Persian].
- Tuberosa, R., and Salvi, S. 2006. Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. Trends in Plant Science, 11: 405-412. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.06.003>
- Turhan, H., and Ayaz, C. 2004. Effect of salinity on seedling emergence and growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. International Journal of Agriculture and Biology, 6(1): 149-152.
- Weston, G.D. 1994. Crop Physiology. LST ed. Oxford: Butterworth Heinemann.
- Zia, S., and Khan, M.A. 2004. Effect of light, salinity, and temperature on seed germination of *Limonium stocksii*. Canadian Journal of Botany, 82(2): 151-157. <https://doi.org/10.1139/b03-118>

Short Research Paper

Study of Germination and Seedling Growth Parameters of Three Clover Species (*Trifolium* spp.) under Drought and Salinity StressesForough Hajivand Ghasemabadi¹, Hamid Reza Eisvand^{2,*}, Naser Akbari³, Omid Ali Akbarpour³**Extended Abstract**

Introduction: Agriculture has been influenced by different abiotic stresses such as temperature, drought and salinity, which reduces roughly half of the yield of crops. In many forage plants, germination and early seedling growth are the most sensitive stages of their growth in the face of environmental stresses. Current research was conducted to study the effects of drought and salinity iso-osmosis stresses on germination indices and growth parameters of three clover species, including *Trifolium resupinatum*, *T. alexandrinum* and *T. incarnatum*.

Material and Methods: Two separate experiments (drought and salinity) were conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications. The test factors included clover species with three levels, including *T. resupinatum*, *T. alexandrinum* and *T. incarnatum* and different levels of drought and salinity potentials (0, -2, -4, -6, -8, -10 and -12 bar) due to polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) and sodium chloride (NaCl), respectively. Sterile disposable petri dishes with a diameter of 10 cm were used, in each of which, 27 seeds were placed on filter paper and then 5 ml of the desired treatment solution was added to each. Petri dishes were then placed in a germinator at 20°C and relative humidity of 75%. After the end of the desired time germination (About 14 days), from each petri, germination percentage and rate, number of secondary roots, time to get 50% germination (D50), root to shoot ratio and the number of abnormal seedlings were recorded.

Results: Inhibitory effects of salinity and drought stresses affected all germination indices. Germination percentage, rate of germination, root and shoot length all decreased with increasing stress levels, while time to get 50% germination (D50) increased with the increase in stress levels. Under both drought and salinity, all growth parameters of *Trifolium resupinatum* were higher than the other two species. Germination percentage of *T. incarnatum* was 0% at -12 bar of drought, but germination of *T. resupinatum* and *T. alexandrinum* was 70.33% and 7.33% at -12 bar of these stresses, respectively. Under salinity conditions, all the seeds of the three species germinated at -12 bar. Root to shoot ratio increased with increasing stress levels and at high stress levels, it decreased. The decreases were 41.39% and 0% in drought and salinity, respectively. The number of secondary roots increased with increasing stress levels and the maximum number was observed in *Trifolium alexandrinum* which was 5.42 and 1 in drought and salinity, respectively. The number of abnormal seedling increased with increasing salinity levels, while under drought conditions there was no abnormal seedling.

Conclusion: Comparison of the effects of sodium chloride and polyethylene glycol showed that sodium chloride reduced germination index due to toxic effects or osmotic effects more than polyethylene glycol solution. It seems that *Trifolium resupinatum* has the best yield in both drought and salinity stresses, and that in drought condition, *Trifolium alexandrinum*, and in salinity stress, *Trifolium incarnatum* have the best performance.

Keywords: Allometric coefficient, Clover, Germination percentage, Osmotic stress

Highlights:

- 1- Introduction of clover species with more tolerance to drought and salinity in germination stage.
- 2- Evaluation of germination indices of clover species under drought and salinity iso-osmotic conditions.

¹ MSc Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorram Abad, Iran

² Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorram Abad, Iran

³ Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorram Abad, Iran

