

## ارزیابی پتانسیل تحمل به خشکی در مرحله تنزیدن بذر اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی (*Securigera varia* L.) به‌عنوان گونه بومی با قابلیت زینتی و کاربرد در فضای سبز

### Evaluation of Drought Tolerance Potential at the Germination Stage in Different Ecotypes of Crownvetch (*Securigera varia* L.), a Native Species with Ornamental Value and Landscaping Application

رحیمه صابرفر<sup>۱</sup>، فرزاد نظری<sup>۲\*</sup>، غلامرضا حیدری<sup>۱</sup>، سیروان بابائی<sup>۱</sup>، ایوب ملا احمد نالوسی<sup>۲</sup>

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

۲- گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

\*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (f.nazari@uok.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۶/۲۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۹/۸

#### چکیده

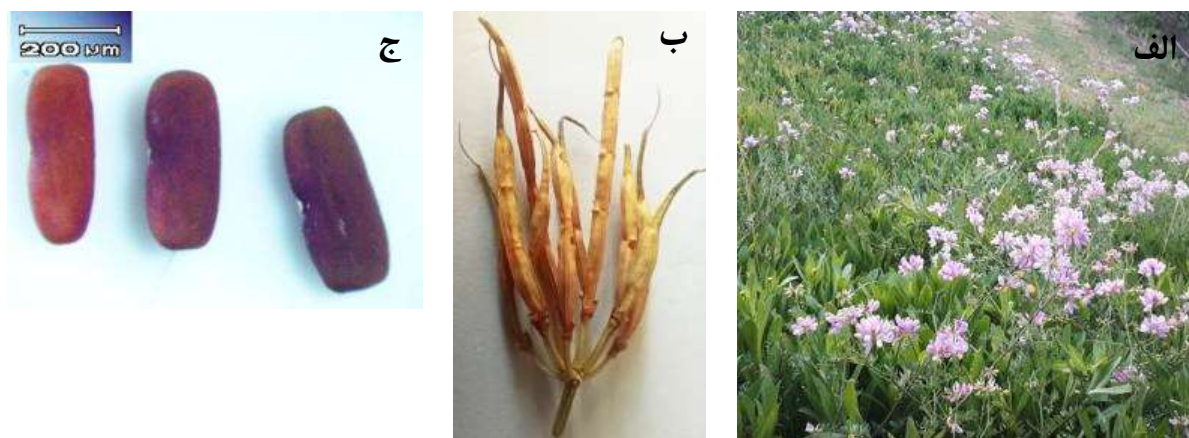
برای ارزیابی اثر تنش خشکی بر شاخص‌های تنزیدن بذر و رشد گیاهچه در اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی (*Securigera varia* L.)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. بذر ۱۰ اکوتیپ بومی این گونه از مناطق همدان، نهاوند، پاوه، سمنان، سنندج، سروآباد، سقز، کرمانشاه، ایلام و مریوان جمع‌آوری شدند. سپس تنش خشکی با بهره‌گیری از محلول PEG ۶۰۰۰ در سطوح صفر (شاهد)، ۲-، ۴-، ۶- و ۸- بار، درون پتری‌دیش اعمال شد. پس از ۱۴ روز، شاخص‌های تنزیدن و رشد گیاهچه اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد با افزایش شدت تنش خشکی از صفر (شاهد) تا ۸- بار، شاخص‌های تنزیدن و رشد گیاهچه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در اکوتیپ مریوان، درصد تنزیدن از ۱۰۰٪ در تیمار شاهد به ۳۷/۶۷٪ و سرعت تنزیدن از ۵/۲۹ به ۰/۷۳ در سطح تنش ۸- بار، کاهش یافت. با افزایش سطح تنش، میانگین تنزیدن روزانه و سرعت تنزیدن روزانه کاهش یافت ولی میانگین زمان تنزیدن و ضریب سرعت تنزیدن افزایش یافت. همچنین، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه بذر در تمام اکوتیپ‌ها کاهش یافت و ضریب آلومتریک، به‌ویژه در اکوتیپ‌هایی مانند سنندج، مریوان و سقز نیز کاهش معنی‌داری نشان داد. در مجموع، تنش خشکی با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و کاهش کارایی جذب آب، موجب افت یکنواختی و بنیه بذر شد. براساس واکاوی خوشه‌بندی سلسله‌مراتبی، اکوتیپ‌های نهاوند و سمنان، در بیشتر سطوح خشکی عملکرد بالایی داشتند و در گروه متحمل قرار گرفتند و می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی و کشت در شرایط کم‌آبی، مورد بهره‌برداری قرار گیرند.

**واژه‌های کلیدی:** درصد تنزیدن، سرعت تنزیدن، شاخص بنیه بذر، شاخص‌های رشد، واکاوی خوشه‌ای.

#### مقدمه

یونجه‌باغی<sup>۱</sup> از تیره لوبیاسانان<sup>۲</sup>، بومی اروپای مرکزی و جنوبی است و در حال حاضر کشت آن در منطقه مدیترانه، روسیه، خاورمیانه و ایالات متحده رایج است (Yerlikaya et al., 2021). در ایران در مراتع، باغ‌ها و حاشیه مزارع استان‌های مازندران، ایلام، اردبیل، گلستان، کردستان، لرستان، تهران، ارومیه، همدان، زنجان، شهرکرد، چهارمحال‌بختیاری، اصفهان، قم و مرکزی به‌طور طبیعی رشد

می‌کند (Salehi Shanjani *et al.*, 2023). این گیاه دارای گل‌های صورتی و سفید (شکل ۱-الف) با غلاف‌های بذر (شکل ۱-ب) بند بند<sup>۱</sup> و مفصل‌دار با طول سه تا هشت سانتی‌متر می‌باشد. هر بند از غلاف دارای یک بذر (شکل ۱-ج) با پوسته به رنگ قهوه‌ای متمایل به زرشکی است که وزن هزار دانه آن حدود ۴/۸۰ گرم می‌باشد. یونجه‌باغی به عنوان گیاهی متحمل به خشکی، سرما و شرایط بیابانی شناخته شده و در حفظ خاک و آب بسیار مؤثر است. افزون بر این، این گونه دارای نیساگ‌های فراوان و توانایی بالایی تثبیت نیتروژن است. همچنین، یک گیاه زینتی عالی است که به دلیل دوره گل‌دهی طولانی و تشکیل سریع حالت چمنزار، اغلب برای حفاظت از شیب‌های بزرگراه‌ها به کار می‌رود (Ma *et al.*, 2024). افزون بر موارد بیان شده، می‌توان از این گونه به عنوان یک گیاه پوششی برای جایگزین چمن در شرایط کم آبی و حتی برای کشت مخلوط و احداث باغچه‌های ترکیبی نیز گزینه مناسبی است. گیاهان در طول رشد و نمو تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند دما، نور، آب، مواد مغذی و غیره قرار می‌گیرند (Bulut & Gurkan, 2017). تنش خشکی روی گیاهان در طول چرخه زندگی یعنی از تنژیدن تا بلوغ تأثیر می‌گذارد. تنش خشکی سبب کاهش و تاخیر در تنژیدن بذر و کاهش نورساخت، سوخت و ساز، رشد اندام‌های هوایی و مواد مغذی در دسترس خاک و تولید ماده خشک می‌گردد (Seleiman *et al.*, 2021).



شکل ۱- الف: مرحله گلدهی یونجه‌باغی در ترکیب با مارگریت در یک باغچه مخلوط در فضای سبز دانشگاه کردستان، ب: غلاف بذر و ج: بذر (تصاویر توسط نویسنده اول و دوم تهیه شده‌اند).

Fig. 1. A: Flowering stage of crown vetch mixed with marguerite in a mixed bed in the landscape of the University of Kurdistan, B: seed pod and C: seed (images were provided by the first and second authors).

تنش خشکی به طور معمول فعالیت‌های طبیعی زندگی گیاهان را مهار می‌کنند و سبب می‌شوند که آن‌ها نتوانند به طور طبیعی رشد، توسعه و تولیدمثل کنند. تحت تنش خشکی، مجموعه‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مربوطه در گیاهان به دلیل کمبود آب رخ می‌دهد که به نوبه خود سبب کم‌آبی پروتوپلاسم گیاه و اختلالات متابولیکی می‌شود و بر رشد طبیعی گیاه تأثیر می‌گذارد (Safari *et al.*, 2023). تنش خشکی زمانی به گیاهان آسیب می‌زند که در مراحل اولیه تنژیدن و رشد گیاهچه باشند. این تنش افزون بر ایجاد اختلال جدی در تنژیدن و سست شدن گیاهچه‌ها، سبب تولید گیاهچه‌های ضعیف و کاهش توان استقرار آن‌ها شده و سرانجام منجر به کاهش قابل توجه عملکرد می‌شود. خشکی سبب کاهش پتانسیل آب خاک و آب جذب شده توسط بذرها می‌شود. یکی از دلایل اصلی کاهش تنژیدن بذر در زمان وقوع تنش خشکی، این است که زمان آبنوشی<sup>۲</sup> بذرها طولانی می‌گردد و این وضعیت می‌تواند تنژیدن بذر گیاهان زراعی مانند لوبیا را در پتانسیل اسمزی کمتر از ۸- بار، به شدت کاهش دهد یا حتی متوقف کند (Himaja *et al.*, 2023).

در آزمایشی برای بررسی تحمل خشکی در تنژیدن بذر ۱۶ رقم یونجه<sup>۱</sup>، از غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول<sup>۲</sup> (PEG) بهره‌گیری شد. با افزایش غلظت، سرعت و انرژی تنژیدن کاهش یافت و شاخص‌هایی چون سرعت تنژیدن نسبی، انرژی تنژیدن و پتانسیل آب نیمه‌کشنده به‌عنوان معیارهای ارزیابی تحمل خشکی پیشنهاد شدند (Fu et al., 2012). اعمال تنش خشکی با PEG در سطوح صفر (شاهد)، ۰/۳، ۰/۵، ۱ و ۱- مگاپاسکال به مدت دو هفته، نشان داد که یونجه بالاترین درصد تنژیدن بذر، جذب آب و شاخص ماده خشک را داشت، بنابراین تحمل بالایی به تنش خشکی نشان داد و واریته *M. varia var. burgaltai* تحمل متوسطی داشت (Molor et al., 2016). در پژوهشی، تأثیر پلاسمای سرد بر تنژیدن و رشد بذر یونجه تحت تنش خشکی بررسی شد و تنش خشکی با PEG در غلظت‌های صفر، پنج، ۱۰ و ۱۵ درصد، شبیه‌سازی شد. بذرها به مدت ۱۵ ثانیه در معرض توان‌های مختلف پلاسما (صفر-۲۸۰ وات) قرار گرفتند. نتایج نشان داد توان ۴۰ وات بهترین تأثیر را بر پتانسیل و درصد تنژیدن، طول ریشه، ارتفاع گیاهچه و شاخص بنیه بذر داشت. شاخص بنیه‌بذر در تیمار ۴۰ وات در تمامی سطوح خشکی به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از نمونه‌های شاهد بود. این تیمار سبب افزایش سازگاری بذرها با تنش خشکی شد و به‌عنوان راهکاری مؤثر برای بهبود رشد بذرها پیشنهاد می‌شود (Feng et al., 2017).

در پژوهشی با بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر تنژیدن بذر یونجه‌باغی در شرایط تنش خشکی اعمال شده با PEG در غلظت‌های هشت و ۱۲ درصد، نتایج نشان داد که در غلظت‌های نیم تا یک میلی‌لیتر در اسیدسالیسیلیک، درصد و قدرت تنژیدن<sup>۳</sup>، شاخص تنژیدن<sup>۴</sup>، طول گیاهچه و وزن خشک آن‌ها افزایش یافت. همچنین، مقدار پروتئین‌های محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی افزایش و نفوذپذیری الکترولیت، محتوی پراکسید هیدروژن و میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن، کاهش یافت (Le et al., 2017). در پژوهشی پرایمینگ بذر یونجه‌باغی در محلول‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد PEG انجام شد، سپس این بذرها در مرحله تنژیدن در معرض تنش آبی ایجاد شده با PEG با غلظت‌های هشت، ۱۰ و ۱۲ درصد به‌ترتیب برای ایجاد پتانسیل آب ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ مگاپاسکال قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پرایمینگ بذر با ۱۰ درصد PEG، به‌طور چشمگیری درصد تنژیدن، بنیه تنژیدن، شاخص تنژیدن، شاخص سرزندگی<sup>۵</sup> و وزن دان‌نهال<sup>۶</sup> را افزایش و زمان رسیدن به ۵۰ درصد تنژیدن (T50) را در شرایط تنش آبی کاهش داد (Ma et al., 2024).

افزایش دما و کاهش بارندگی در برخی مناطق جهان، به‌ویژه در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک، سبب ایجاد تنش‌های خشکی و شوری شده است (Gad et al., 2021; Zhou et al., 2022). گزارش شده که بهره‌گیری از گونه‌های بومی متحمل به خشکی، می‌تواند پوشش گیاهی مناطق شهری را افزایش دهد و توسعه پایدار فضاهای سبز را فراهم کند. به عنوان نمونه، پژوهشی در شرق ایران با بهره‌گیری از مدل‌های پراکنش گونه‌ها نشان داد که گونه‌هایی مانند *Cercis griffithii*، *Iris songarica* و *Tamarix ramosissima* می‌توانند در توسعه فضاهای سبز مناطق شهری مورد بهره‌برداری قرار گیرند، درحالی‌که گونه‌هایی مانند *Acantholimon erinaceum* و *Salvia abrotanoides* برای برخی مناطق مناسب نیستند (Karimian et al., 2020).

در این راستا، یونجه‌باغی به‌عنوان گونه‌ای بومی و سازگار با شرایط طبیعی کشور، می‌تواند گزینه‌ای ارزشمند برای بهره‌برداری در طراحی منظر، پوشش خاک و جایگزینی گیاهان پرمصرف آب باشد. هدف این پژوهش، بررسی تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های تنژیدن بذر و رشد اولیه اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی، با هدف شناسایی اکوتیپ‌های متحمل به خشکی و امکان جایگزینی آن به عنوان یک گیاه چندمنظوره برای کاربرد در فضای سبز و پوشش خاک می‌باشد. با توجه به تحمل این گونه نسبت به شرایط نامساعد محیطی و توانایی تثبیت نیتروژن، نتایج این پژوهش می‌تواند در معرفی جایگزین مناسبی برای گل‌های فصلی و نیز چمن‌های پرمصرف در مناطق خشک و نیمه‌خشک و افزایش پایداری اکوسیستم‌های طبیعی و شهری، نقش مهم و مؤثری ایفا نماید.

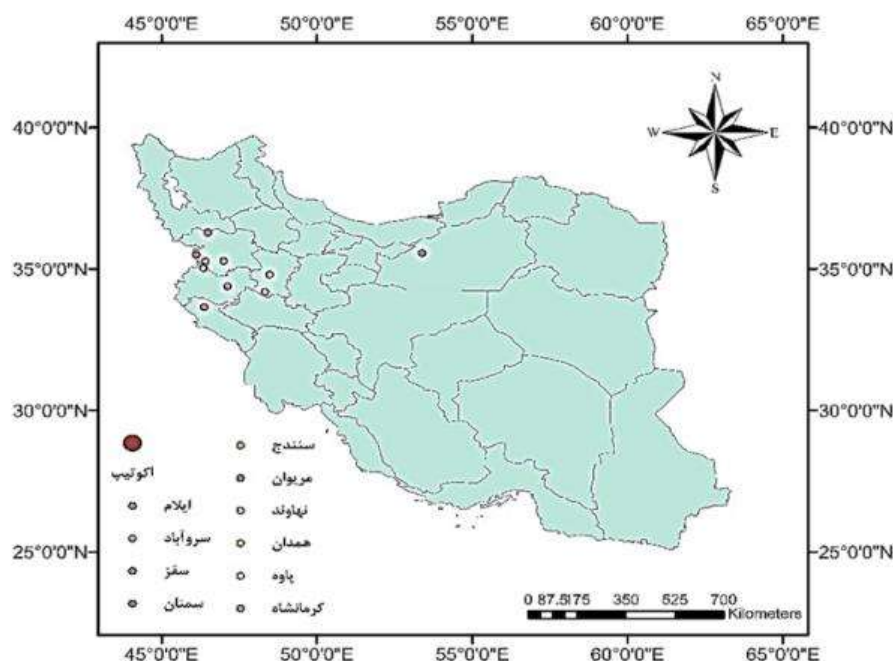
## مواد و روش‌ها

|                                       |                        |                       |                      |
|---------------------------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|
| ۱- Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> ) | ۲- Polyethylene glycol | ۳- Germination vigour | ۴- Germination index |
| ۵- Vitality index                     | ۶- Seedling mass       |                       |                      |

بذر اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی از شهرستان‌های همدان، نهاوند، پاوه، سمنان، سنندج، سروآباد، سقز، کرمانشاه، ایلام و مریوان (که در این پژوهش به ترتیب از شماره E1 تا E10 نام‌گذاری شده‌اند) جمع‌آوری شد (شکل ۲). پس از گندزدایی، بذرها در گروه‌های ۵۰ تایی روی کاغذ صافی واتمن شماره یک، درون پتری‌دیش‌های به قطر نه سانتی‌متر قرار داده شدند. به هر پتری‌دیش مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و در صورت نیاز در طول دوره تنزیدن آب اضافه گردید. برای کاهش تبخیر آب، پتری‌دیش‌ها در یک سینی قرار داده شده و سپس کل مجموعه درون کیسه پلاستیکی نگهداری شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۲۰ درجه سلسیوس در هشت ساعت نور و ۱۶ ساعت تاریکی در شدت نور ۷۰۰ لوکس، درون دستگاه ژرمیناتور (مدل MLR-350H، شرکت الکترونیک سانپو ژاپن) به مدت ۱۴ روز قرار گرفتند (Ma *et al.*, 2024).

برای بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر تنزیدن بذر در اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان انجام شد. عامل اول اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی و عامل دوم تنش خشکی با سطوح صفر (شاهد)، ۲-، ۴-، ۶-، ۸- بار از محلول PEG6000 بود که به صورت محلول به پتری‌دیش‌های بذر افزوده شد. غلظت PEG مورد نیاز برای ایجاد پتانسیل اسمزی متناظر، از رابطه ۱ (Michel & Kaufman, 1973) به دست آمد. برای حفظ غلظت ثابت PEG، محلول‌ها هر دو روز یک‌بار تعویض شدند (Ma *et al.*, 2024).

$$\Psi S = - (1.8 \times 10^{-2}) C - (1.8 \times 10^{-4}) C^2 + (2.67 \times 10^{-4}) CT + (8.39 \times 10^{-2} T) \quad (1)$$



شکل ۲- مناطق جمع‌آوری بذر ۱۰ اکوتیپ یونجه‌باغی.

Fig. 2. Seed collection areas of 10 crown vetch ecotypes.

پس از ۱۴ روز از شروع پژوهش، ویژگی‌های درصد تنزیدن (Blum, 1988)، سرعت تنزیدن (Maguire, 1962)، شاخص بنیه بذر (Abdulkali & Anderson, 1973)، میانگین تنزیدن روزانه (Osborne *et al.*, 1993)، میانگین زمان تنزیدن (Brenchley *et al.*, 1998)، سرعت تنزیدن روزانه (Maguire, 1962)، ضریب سرعت تنزیدن (Scott *et al.*, 1984) و ضریب آلومتریک (Ebrahimi, 2013; Ebrahimi & Miri, 2016) به ترتیب با بهره‌گیری از روابط زیر محاسبه شد.

$$(۲) GP = \sum Ni / N \times 100$$

$$(۳) GR = \sum Si / Di \times 100$$

$$(۴) VI = [GR (\%) \times MSH] / 100$$

$$(۵) MDG = b/n \times 100$$

$$(۶) MGT = (\sum ni \times di) / b$$

$$(۷) DGS = 1/MDG$$

$$(۸) CVG = ((N_1 + N_2 + N_3 \dots + N_n) \times 100) / (N_1T_1 + N_2T_2 + N_3T_3 \dots + N_nT_n)$$

$$(۹) AC = RL / SL$$

که در این روابط، GP درصد تنژیدن،  $\sum Ni$  مجموع بذرهای تنژیده در طول مدت آزمایش، N تعداد کل بذرهای کشت شده، GR درصد تنژیدن، Si تعداد بذرهای تنژیده در هر شمارش، Di تعداد روز تا شمارش nام، VI شاخص بنیه‌بذر، MSH متوسط طول گیاهچه به میلی‌متر، MDG میانگین تنژیدن روزانه، b کل تعداد بذرهای تنژیده در طول دوره آزمایش، n کل تعداد روزهای دوره تنژیدن یا آزمایش، MGT میانگین زمان تنژیدن، ni تعداد بذرهایی که در روز i تنژیده‌اند، di شماره روز (از شروع آزمایش) که تنژیدن ثبت شده، b تعداد کل بذرهای تنژیده، DGS سرعت تنژیدن روزانه، CVG ضریب سرعت تنژیدن،  $N_1 + \dots + N_n$  تعداد بذرهای تنژیده در روز nام،  $T_1 + \dots + T_n$  تعداد روز از شروع آزمایش تا روز nام، AC ضریب آلومتریک، RL طول ریشه‌چه و SL طول ساقه‌چه می‌باشد. هنگام شمارش، بذرهایی تنژیده در نظر گرفته شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها حداقل دو میلی‌متر بود. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با خط کش اندازه‌گیری شد و وزن خشک گیاهچه، پس از قرارگیری ۱۵ گیاهچه در در آون (مدل UNE 500) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سلسیوس با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند.

واکاوی داده‌ها با بهره‌گیری از برنامه آماری SAS (نسخه ۹/۴) و مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد، انجام شد. برای بررسی همبستگی بین شاخص‌های تنژیدن و صفات رشدی، ماتریس همبستگی پیرسون محاسبه شد و با بهره‌گیری از نرم‌افزار R و بسته‌های ggcorrplot و corrplot نمودار ماتریس همبستگی به صورت نقشه رنگی رسم گردید. برای واکاوی ساختار داده‌ها و کاهش ابعاد، واکاوی مؤلفه‌های اصلی (PCA) با نرم‌افزار R و بسته precomp انجام شد. نمودار بی‌پلات (Biplot) برای نمایش توزیع (اکوتیپ‌ها) و بارهای صفات روی مؤلفه‌های اصلی اول و دوم با بهره‌گیری از بسته ggplot2 رسم گردید و نمودارهای ستونی توسط نرم‌افزار Excel ترسیم گردید.

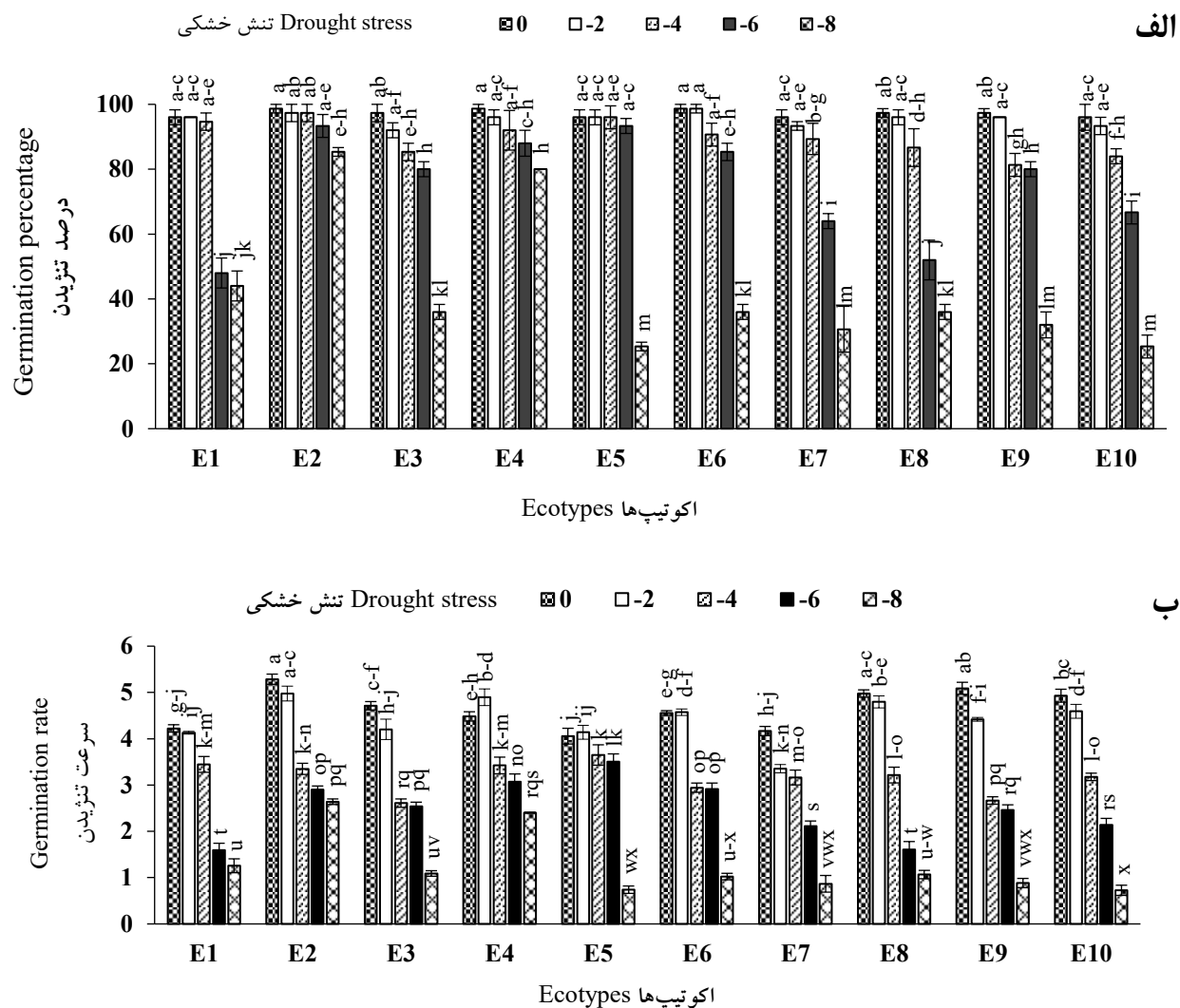
## نتایج و بحث

### درصد و سرعت تنژیدن بذر

مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف خشکی بر درصد (شکل ۳-الف) و سرعت تنژیدن بذر (شکل ۳-ب)، بیانگر کاهش این ویژگی‌ها با افزایش سطوح تنش از صفر تا ۸- بار بود. تفاوت معنی‌دار بین اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی در تیمار شاهد از نظر درصد تنژیدن مشاهده نشد و اکوتیپ‌های نهاوند، سمنان و سروآباد، بالاترین درصد تنژیدن (۹۸/۶۷) را در نمونه شاهد داشتند. بالاترین درصد تنژیدن در سطح ۲- بار، متعلق به اکوتیپ سروآباد (۹۸/۶۷)، در سطح ۴- بار متعلق به اکوتیپ نهاوند (۹۷/۳۳)، در سطح ۶- بار متعلق به اکوتیپ‌های نهاوند و سنندج (۹۷/۳۳) و در سطح ۸- بار متعلق به اکوتیپ نهاوند (۸۵/۳۳) بود. بیشترین کاهش تنژیدن نسبت به نمونه شاهد در اکوتیپ مریوان و سنندج و کمترین آن در اکوتیپ نهاوند مشاهده شد، به طوری که این میزان کاهش در مریوان و سنندج ۷۰/۶۷ درصد و در نهاوند ۱۳/۳۳ درصد بود. (شکل ۳-الف). در بین اکوتیپ‌های یونجه‌باغی، اکوتیپ نهاوند بالاترین سرعت تنژیدن (۵/۲۹) در تیمار شاهد و اکوتیپ مریوان کمترین سرعت تنژیدن (۰/۷۳) را در تیمار خشکی ۸- بار به خود اختصاص داد (شکل ۳-ب). در پژوهشی، اعمال تنش خشکی با بهره‌گیری از غلظت‌های هشت، ۱۰ و ۱۲ درصد PEG که به ترتیب معادل پتانسیل‌های اسمزی ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲- بار بودند، موجب کاهش معنی‌دار درصد تنژیدن بذرهای یونجه‌باغی رقم Emerald شد. با افزایش شدت تنش، درصد تنژیدن به طور تدریجی کاهش یافت، به طوری که در بالاترین سطح تنش (۰/۲- بار) میزان تنژیدن نسبت

به شرایط بدون تنش، حدود ۳۸ درصد کمتر بود. این روند نشان‌دهنده حساسیت بذرها به کاهش پتانسیل آب در مراحل آغازین تنژیدن است و بیانگر آن است که شدت بیشتر تنش با کاهش جذب آب و اختلال در فعالیت‌های فیزیولوژیک بذر، همراه است (Ma *et al.*, 2024). اثر تنش خشکی ایجاد شده با PEG بر شاخص‌های تنژیدن بذر عدس الملک (عدس تلخ)<sup>۱</sup> نشان داد که با کاهش پتانسیل آب، درصد تنژیدن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری‌که از ۸۲/۸۶ درصد در شرایط بدون تنش به ۴۴ درصد در تنش ۲- بار رسید. بیشترین کاهش درصد تنژیدن در سطح ۱/۴- بار مشاهده شد که نسبت به شاهد، حدود ۳۶ درصد کاهش داشت. با افزایش شدت تنش خشکی، درصد و سرعت تنژیدن نیز کاهش یافت (Moradian *et al.*, 2024).

علت اصلی کاهش درصد تنژیدن، را می‌توان، محدود شدن جذب آب توسط بذرها و اختلال در فرایندهای متابولیکی اولیه تنژیدن بیان کرد (Balouchi *et al.*, 2023). در پتانسیل‌های اسمزی بالاتر، میزان بذر تنژیده در روز، با سرعت بیشتری روند کاهشی می‌یابد، زیرا افزایش پتانسیل اسمزی موجب کاهش توانایی دستیابی بذر به آب می‌شود. با کاهش جذب آب، روند فعالیت‌های متابولیکی، کاهش یافته و در نتیجه مدت زمان خروج ریشه‌چه از بذر افزایش می‌یابد و از این رو سرعت تنژیدن کاهش پیدا می‌کند (Alhammad *et al.*, 2023; Oveisi *et al.*, 2024). به‌طور کلی، بالا بودن میزان درصد تنژیدن در شرایط تنش خشکی، نقش مهمی در استقرار گیاهچه و با افزایش سطح تنش میزان جذب آب کاهش می‌یابد، که میزان این کاهش بسته به نژادگان، می‌تواند متفاوت باشد (Mahpara *et al.*, 2022). با افزایش سطح تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های کنترل‌کننده تنژیدن و ذخیره بذر برای رشد گیاهک، مختل می‌شود. بنابراین با توجه به اهمیت درصد تنژیدن در انتخاب نژادگان‌های متحمل به خشکی (Memon *et al.*, 2023)، می‌توان نتیجه گرفت اکوتیپ‌های یونجه‌باغی نهالوند و سمنان از نظر این ویژگی، متحمل به خشکی می‌باشند.



شکل ۳- مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی بر درصد تنژیدن (الف) و سرعت تنژیدن (ب) بذر. میله‌ها نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (SE) بر اساس سه تکرار ( $n=3$ ) هستند.

Fig. 2. Comparison of the mean interaction effect of drought stress and different crown vetch ecotypes on germination percentage (A) and germination rate (B). Bars represent the mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ).

### میانگین تنژیدن روزانه و میانگین زمان تنژیدن

میانگین تنژیدن روزانه نشان‌دهنده تعداد بذرهای تنژیده به‌طور میانگین در هر روز است و شاخصی برای سنجش یکنواختی و سرعت تنژیدن محسوب می‌شود. کاهش میانگین زمان تنژیدن تحت شرایط تنش، نشانه‌ای از کاهش یکنواختی زمانی و کارایی فرآیند تنژیدن است و به‌طور معمول همراه با افزایش میانگین تنژیدن روزانه مشاهده می‌شود (Ranal & Garcia de Santana, 2006). افزایش سطوح تنش خشکی از ۲- تا ۸- بار سبب کاهش میانگین تنژیدن روزانه شد. اختلاف معنی‌دار بین اکوتیپ‌های مختلف از نظر میانگین تنژیدن روزانه در تیمار شاهد مشاهده نشد و برای اکوتیپ‌های همدان، سنندج، سروآباد و سقز ۶/۹ و برای سایر اکوتیپ‌ها ۷/۱ بود. در اکوتیپ نهاوند، میانگین تنژیدن روزانه در تمام تیمارها ۷/۱ و در تیمار ۸- بار ۶/۳ به‌دست آمد. اکوتیپ سنندج بیشترین کاهش

در میانگین تنژیدن روزانه را داشت به طوری که از ۶/۹ در تیمار شاهد به ۱/۷ در تیمار ۸- بار رسید (جدول ۱). میانگین زمان تنژیدن یکی از شاخص‌های مهم فیزیولوژیکی است که نشان‌دهنده سرعت کلی تنژیدن بذرها در طول زمان است. افزایش میانگین زمان تنژیدن، بیانگر کند شدن فرآیند تنژیدن و طولانی‌تر شدن زمان لازم برای تنژیدن بذرها است که به طور معمول تحت تأثیر تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری یا دمای پایین مشاهده می‌شود. به عبارت دیگر، میانگین زمان تنژیدن بالا به معنای تأخیر در آغاز و پیشرفت فرآیند تنژیدن است (Bewley *et al.*, 2013). میانگین زمان تنژیدن بذر به تقریب در تمامی اکوتیپ‌ها با افزایش سطح تنش خشکی، افزایش یافت و بالاترین میانگین زمان تنژیدن (۹/۶) متعلق به تیمار ۸- بار در اکوتیپ همدان و کمترین آن (۵/۲) متعلق به تیمار شاهد در اکوتیپ‌های سنندج و سروآباد بود. همسو با نتایج پژوهش حاضر، افزایش میانگین زمان تنژیدن بذر با افزایش سطح تنش خشکی گزارش شده است (Khodarahmpour, 2011). در پژوهشی تنش خشکی ایجاد شده با PEG تأثیر چشمگیری بر فرآیند تنژیدن بذرها داشت و سورگوم داشته، به طوری که با افزایش شدت تنش، میانگین تنژیدن به شدت کاهش یافته و در مقابل، میانگین زمان تنژیدن افزایش پیدا کرده است (Queiroz *et al.*, 2019). در این پژوهش، اکوتیپ نهاوند به تقریب تغییری در میانگین زمان تنژیدن روزانه در تمامی تیمارها نشان نداده و همچنین کمترین افزایش میانگین زمان تنژیدن را در تیمار ۸- بار نسبت به شاهد نشان داد. تفاوت در بین اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی می‌تواند ناشی از تفاوت در اندازه بذر، ترکیب شیمیایی ذخایر و ظرفیت بذر برای مقابله با شرایط نامساعد محیطی باشد که از اهمیت زیادی در انتخاب گونه‌ها یا ارقام مقاوم به خشکی برخوردار است (Santos *et al.*, 2014). به طور کلی، تأخیر در میانگین زمان تنژیدن و کاهش میانگین تنژیدن روزانه در شرایط تنش خشکی می‌تواند منجر به کاهش یکنواختی و کارایی کشت شود، زیرا بذرهایی که دیرتر می‌تنزند بیشتر در معرض آسیب عوامل بیماری‌زا و آفات قرار می‌گیرند و این موضوع بر تثبیت موفقیت‌آمیز گیاهچه‌ها تأثیر منفی می‌گذارد (Teixeira *et al.*, 2008).

جدول ۱- مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی بر میانگین زمان تنژیدن و میانگین تنژیدن روزانه.

Table 1. Mean comparison of the interaction of drought stress and different crown vetch ecotypes on mean germination time and average daily germination.

| اکوتیپ<br>Ecotype | میانگین تنژیدن روزانه<br>Average daily germination |                   |                   |                   |                   | میانگین زمان تنژیدن<br>Mean germination time |                    |                    |                    |                    |
|-------------------|----------------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                   | Drought stress (bar)                               |                   |                   |                   |                   | تنش خشکی (بار)                               |                    |                    |                    |                    |
|                   | 0                                                  | -2                | -4                | -6                | -8                | 0                                            | -2                 | -4                 | -6                 | -8                 |
| E1                | 6.9 <sup>ab</sup>                                  | 6.9 <sup>ab</sup> | 6.6 <sup>bc</sup> | 4 <sup>gh</sup>   | 3.7 <sup>h</sup>  | 7.5 <sup>f-m</sup>                           | 7 <sup>i-q</sup>   | 7 <sup>i-q</sup>   | 6.1 <sup>o-u</sup> | 9.6 <sup>a</sup>   |
| E2                | 7.1 <sup>a</sup>                                   | 7.1 <sup>a</sup>  | 7.1 <sup>a</sup>  | 7.1 <sup>a</sup>  | 6.3 <sup>cd</sup> | 6 <sup>q-u</sup>                             | 5.4 <sup>s-u</sup> | 7.4 <sup>g-n</sup> | 8.3 <sup>c-i</sup> | 8.4 <sup>a-i</sup> |
| E3                | 7.1 <sup>a</sup>                                   | 6.6 <sup>bc</sup> | 6.3 <sup>cd</sup> | 6 <sup>de</sup>   | 2.3 <sup>j</sup>  | 6.4 <sup>m-t</sup>                           | 7.3 <sup>i-o</sup> | 8.1 <sup>b-j</sup> | 7.8 <sup>c-k</sup> | 8.3 <sup>b-i</sup> |
| E4                | 7.1 <sup>a</sup>                                   | 6.9 <sup>ab</sup> | 6.9 <sup>ab</sup> | 6.6 <sup>bc</sup> | 5.7 <sup>e</sup>  | 6.2 <sup>n-t</sup>                           | 4.9 <sup>u</sup>   | 8.5 <sup>a-h</sup> | 7.6 <sup>d-j</sup> | 8.8 <sup>a-e</sup> |
| E5                | 6.9 <sup>ab</sup>                                  | 7.1 <sup>a</sup>  | 7.1 <sup>a</sup>  | 7.1 <sup>a</sup>  | 1.7 <sup>k</sup>  | 5.5 <sup>s-u</sup>                           | 6.3 <sup>n-t</sup> | 7.6 <sup>d-k</sup> | 8.6 <sup>a-f</sup> | 9.1 <sup>ab</sup>  |
| E6                | 6.9 <sup>ab</sup>                                  | 6.9 <sup>ab</sup> | 6 <sup>de</sup>   | 5.7 <sup>e</sup>  | 2.3 <sup>j</sup>  | 5.2 <sup>u</sup>                             | 5.3 <sup>s-u</sup> | 6.5 <sup>l-s</sup> | 7.2 <sup>i-p</sup> | 9.1 <sup>ab</sup>  |
| E7                | 7.1 <sup>a</sup>                                   | 6.9 <sup>ab</sup> | 6.9 <sup>ab</sup> | 4.9 <sup>f</sup>  | 3.1 <sup>i</sup>  | 6.8 <sup>k-r</sup>                           | 7.6 <sup>e-m</sup> | 7.8 <sup>c-k</sup> | 7.8 <sup>c-k</sup> | 8.9 <sup>a-c</sup> |
| E8                | 6.9 <sup>ab</sup>                                  | 6.9 <sup>ab</sup> | 6.9 <sup>ab</sup> | 4.3 <sup>g</sup>  | 2.9 <sup>i</sup>  | 5.8 <sup>r-u</sup>                           | 7 <sup>i-q</sup>   | 7.6 <sup>d-l</sup> | 8.3 <sup>b-i</sup> | 8.7 <sup>a-f</sup> |
| E9                | 7.1 <sup>a</sup>                                   | 6.9 <sup>ab</sup> | 6.3 <sup>cd</sup> | 6 <sup>de</sup>   | 2 <sup>jk</sup>   | 6 <sup>p-u</sup>                             | 6.1 <sup>n-t</sup> | 8.8 <sup>a-e</sup> | 8.4 <sup>b-i</sup> | 9.1 <sup>ab</sup>  |
| E10               | 7.1 <sup>a</sup>                                   | 6.9 <sup>ab</sup> | 6 <sup>de</sup>   | 4.9 <sup>f</sup>  | 2.3 <sup>j</sup>  | 6.3 <sup>n-t</sup>                           | 6.5 <sup>l-s</sup> | 8.3 <sup>b-i</sup> | 8.5 <sup>a-g</sup> | 9 <sup>a-c</sup>   |

برای هر صفت، میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند. For each trait, means followed by the same letter are not significantly different according to the LSD test at the 1% probability level.



## سرعت تنژیدن روزانه و ضریب سرعت تنژیدن

مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف خشکی بر سرعت تنژیدن روزانه و ضریب سرعت تنژیدن آن نشان داد که با افزایش سطح خشکی سرعت تنژیدن روزانه در بیشتر اکوتیپ‌ها کاهش و ضریب سرعت تنژیدن افزایش یافت. بالاترین سرعت تنژیدن روزانه به ترتیب (۰/۶) به تیمار ۸- بار اکوتیپ سنندج تعلق گرفت و کمترین آن (۰/۱۵) بود که بین تیمارهای شاهد، ۲- و ۴- بار در تمامی اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (جدول ۲). سرعت تنژیدن روزانه یک شاخص مهم برای بررسی مقاومت به خشکی در مرحله تنژیدن است، چون نرخ بالا، فرصت بیشتری برای استقرار موفق فراهم می‌کند (Aghighi Shahverdikandi *et al.*, 2011). ضریب سرعت تنژیدن بیانگر سرعت کلی تنژیدن در جمعیت بذرها است. رقم‌های مقاوم به تنش، توانایی حفظ سرعت و یکنواختی در روند تنژیدن را حتی تحت شرایط محدودیت آب دارند (Aghighi Shahverdikandi *et al.*, 2011). بالاترین ضریب سرعت تنژیدن (۰/۲) به اکوتیپ سمنان در خشکی ۲- بار و کمترین ضریب سرعت تنژیدن (۱) به اکوتیپ همدان اختصاص یافت. بین اکوتیپ‌های مختلف در خشکی ۸- بار از نظر سرعت تنژیدن روزانه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). در پژوهشی سرعت روزانه تنژیدن در بذوری که درصد تنژیدن بالایی داشتند، در پایین‌ترین مقدار قرار گرفت و ضریب سرعت تنژیدن به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی و تفاوت‌های ژنتیکی بین اکوتیپ‌ها قرار گرفته است که با نتایج پژوهش حاضر همسو است (Aghighi Shahverdikandi *et al.*, 2011). در پژوهش دیگری مقایسه‌های میانگین سطوح خشکی بر ضریب سرعت تنژیدن نشان داد سطح شاهد بیشترین ضریب سرعت تنژیدن را داشت و با افزایش سطوح خشکی تا ۱۴- بار ضریب سرعت تنژیدن کاهش یافت و این کاهش معادل ۴۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد بود (Ghaffari & Tadayon, 2018).

جدول ۲- مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی بر سرعت تنژیدن روزانه و ضریب سرعت تنژیدن.

Table 2. Mean comparison the interaction of drought stress and different crownvetch ecotypes on daily germination speed, and germination rate coefficient.

| اکوتیپ<br>Ecotype | سرعت تنژیدن روزانه<br>Daily germination speed |                   |                   |                    |                    | ضریب سرعت تنژیدن<br>Coefficient of velocity of Germination |                     |                     |                     |                     |
|-------------------|-----------------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                   | Drought stress (bar)                          |                   |                   |                    |                    |                                                            |                     |                     |                     |                     |
|                   | 0                                             | -2                | -4                | -6                 | -8                 | 0                                                          | -2                  | -4                  | -6                  | -8                  |
| E1                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.16 <sup>i</sup> | 0.26 <sup>ef</sup> | 0.28 <sup>e</sup>  | 0.13 <sup>k-r</sup>                                        | 0.15 <sup>g-n</sup> | 0.14 <sup>h-o</sup> | 0.16 <sup>e-i</sup> | 0.1 <sup>s</sup>    |
| E2                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.15 <sup>i</sup> | 0.15 <sup>i</sup>  | 0.16 <sup>i</sup>  | 0.17 <sup>b-g</sup>                                        | 0.18 <sup>a-e</sup> | 0.14 <sup>j-q</sup> | 0.12 <sup>o-s</sup> | 0.12 <sup>o-s</sup> |
| E3                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.16 <sup>i</sup> | 0.16 <sup>i</sup> | 0.17 <sup>i</sup>  | 0.45 <sup>c</sup>  | 0.16 <sup>e-k</sup>                                        | 0.14 <sup>i-p</sup> | 0.13 <sup>m-s</sup> | 0.13 <sup>l-r</sup> | 0.12 <sup>o-s</sup> |
| E4                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.15 <sup>i</sup> | 0.16 <sup>i</sup>  | 0.18 <sup>hi</sup> | 0.16 <sup>e-i</sup>                                        | 0.2 <sup>a</sup>    | 0.12 <sup>p-s</sup> | 0.13 <sup>k-r</sup> | 0.11 <sup>rs</sup>  |
| E5                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.15 <sup>i</sup> | 0.15 <sup>i</sup>  | 0.6 <sup>a</sup>   | 0.18 <sup>a-e</sup>                                        | 0.16 <sup>e-i</sup> | 0.13 <sup>k-r</sup> | 0.12 <sup>p-s</sup> | 0.11 <sup>rs</sup>  |
| E6                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.17 <sup>i</sup> | 0.18 <sup>hi</sup> | 0.45 <sup>c</sup>  | 0.19 <sup>ab</sup>                                         | 0.19 <sup>a-c</sup> | 0.15 <sup>f-l</sup> | 0.14 <sup>i-p</sup> | 0.11 <sup>rs</sup>  |
| E7                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.15 <sup>i</sup> | 0.21 <sup>gh</sup> | 0.33 <sup>d</sup>  | 0.15 <sup>f-l</sup>                                        | 0.13 <sup>k-r</sup> | 0.13 <sup>l-r</sup> | 0.13 <sup>l-r</sup> | 0.11 <sup>q-s</sup> |
| E8                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.15 <sup>i</sup> | 0.24 <sup>fg</sup> | 0.36 <sup>d</sup>  | 0.18 <sup>a-e</sup>                                        | 0.15 <sup>f-m</sup> | 0.13 <sup>l-q</sup> | 0.12 <sup>n-s</sup> | 0.11 <sup>q-s</sup> |
| E9                | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.16 <sup>i</sup> | 0.17 <sup>i</sup>  | 0.52 <sup>b</sup>  | 0.17 <sup>b-f</sup>                                        | 0.17 <sup>c-h</sup> | 0.11 <sup>q-s</sup> | 0.12 <sup>p-s</sup> | 0.11 <sup>rs</sup>  |
| E10               | 0.15 <sup>i</sup>                             | 0.15 <sup>i</sup> | 0.17 <sup>i</sup> | 0.21 <sup>gh</sup> | 0.45 <sup>c</sup>  | 0.17 <sup>c-h</sup>                                        | 0.16 <sup>d-j</sup> | 0.12 <sup>n-s</sup> | 0.12 <sup>o-s</sup> | 0.11 <sup>q-s</sup> |

برای هر صفت، میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

For each trait, means followed by the same letter are not significantly different according to the LSD test at the 1% probability level

### طول ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه و شاخص بنیه بذر

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی نشان داد که با افزایش تنش خشکی طول ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه کاهش یافت. بیشترین طول ریشه چه (۱۰/۶ سانتی‌متر) در تیمار ۲- بار در اکوتیپ نه‌اوند و کمترین طول ریشه چه (۱/۲ سانتی‌متر) در تیمار ۸- بار در اکوتیپ‌های مریوان و پاوه مشاهده شد. بیشترین طول ساقه چه (۱/۴ سانتی‌متر) در تیمار ۲- بار در اکوتیپ سمنان و کمترین طول ساقه چه (۰/۵ سانتی‌متر) در تیمار ۸- بار در اکوتیپ‌های پاوه، سقز و ایلام مشاهده شد. بیشترین طول گیاهچه (۱۲/۹ سانتی‌متر) در تیمار ۲- بار در اکوتیپ نه‌اوند و کمترین طول گیاهچه (۲/۸ سانتی‌متر) در تیمار ۸- بار در اکوتیپ‌های پاوه و سقز مشاهده شد (جدول ۳). شاخص بنیه بذر تحت تاثیر برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی قرار گرفت و بیشترین شاخص بنیه بذر (۱۲/۶) در تیمار ۲- بار در اکوتیپ نه‌اوند و کمترین شاخص بنیه بذر (۰/۷۷) در تیمار ۸- بار در اکوتیپ سمنان مشاهده شد (شکل ۴). واکنش ریشه به تغییرات محیطی از طریق ویژگی طول ریشه انجام می‌شود. تحت تنش خشکی، رشد ریشه محدود خواهد شد علت این امر می‌تواند کم آبی پروتوپلاسم در شرایط پتانسیل اسمزی و اثر آن روی کاهش تقسیم یاخته‌ای باشد. در برخی نژادگان افزایش سطح خشکی موجب افزایش طول ریشه چه برای سازگاری با محیط شده است (Abido & Zsombik, 2018). در شرایط تنش با کاهش جذب آب و اختلال فعالیت‌های آنزیمی و کاهش تولید اکسین، طول ریشه چه و ساقه چه کاهش یافته و در نتیجه، طول گیاهچه به‌دست آمده نیز کاهش می‌یابد. در شرایط تنش از جمله خشکی، میزان اسید آسبیزیک افزایش یافته و مانع رشد یاخته‌های گیاه می‌شوند (Gupta & Palma, 2021). شاخص بنیه بذر نشان دهنده قدرت و توانایی گیاهچه برای رشد سریع و واکنش به شرایط محیطی است و از ترکیب درصد تنزیدن و طول گیاهچه به‌دست می‌آید، به‌شدت تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد (Beyaz, 2022). نتایج این پژوهش در مورد طول ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه و همچنین شاخص بنیه بذر با نتایج گزارش شده در مورد سایر گیاهان تیره لوبیاسانان و گیاهان زراعی در شرایط تنش خشکی هم‌راستا بود (Yousefi et al., 2020; Ahmed et al., 2022). در پژوهشی نتایج بررسی اثر تنش خشکی بر تنزیدن بذر یونجه نشان داده است که شاخص بنیه‌بذر و شاخص‌های رشد طولی گیاهچه شامل طول ریشه چه، طول ساقه چه و طول کل گیاهچه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر شدت‌های مختلف تنش خشکی قرار گرفتند. با کاهش پتانسیل اسمزی محیط از شرایط شاهد به سطوح ۲-، ۳- و ۴- بار این شاخص‌ها روندی کاهشی نشان دادند که بیانگر اثر بازدارنده تنش اسمزی بر توان زیستی بذر و رشد اولیه گیاهچه است. در شدت‌های ملایم‌تر تنش مانند ۲- بار کاهش رشد به‌نسبت کمتر بود، اما در تیمار ۴- بار تمامی شاخص‌ها از جمله شاخص بنیه بذر و طول اجزای گیاهچه کاهش چشم‌گیری داشتند (Quan et al., 2023).

بررسی اثر تنش خشکی بر رشد گیاهچه‌های یونجه‌باغی رقم Emerald نشان داد که با افزایش شدت تنش، طول گیاهچه و شاخص بنیه بذر به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در سطوح متوسط و شدید تنش (پتانسیل‌های ۰/۱۵- و ۲- بار)، کاهش قابل توجهی در طول گیاهچه مشاهده شد و در بالاترین شدت تنش، طول گیاهچه به‌طور میانگین نزدیک به ۲۲ میلی‌متر کمتر از شرایط بدون تنش بود. این کاهش رشد نشان‌دهنده اثر منفی تنش خشکی بر تقسیم و توسعه یاخته‌ای در مراحل آغازین رشد است. به‌طور کلی، کاهش پتانسیل آب ناشی از PEG با ایجاد اختلال در جذب آب و کاهش فعالیت‌های آنزیمی، موجب افت معنی‌دار در تنزیدن و رشد اولیه گیاهچه شد. با افزایش غلظت PEG و کاهش پتانسیل آب محیط، شاخص بنیه بذر به‌صورت وابسته به غلظت کاهش یافت، به‌گونه‌ای که در تنش ملایم هشت درصد PEG، شاخص بنیه به‌طور قابل توجهی کاهش یافت و در شدت بالاتر تنش ۱۲ درصد PEG، این کاهش تشدید شد. این کاهش به‌احتمال ناشی از کاهش توان تنزیدن، کاهش رشد گیاهچه و اختلال در فعالیت‌های فیزیولوژیکی مرتبط با سنتز پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و تنظیم اسمزی در شرایط محدودیت آب بوده است. در نتیجه، شاخص بنیه بذر می‌تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های حساس و کاربردی در ارزیابی تحمل ارقام و گونه‌ها به تنش خشکی تلقی گردد (Ma et al., 2024). در پژوهشی نشان داده شده که اعمال تنش خشکی ایجاد شده با PEG تاثیر منفی مشخصی بر طول ریشه چه و ساقه چه در یونجه‌باغی داشته است. به‌طوری‌که در مقایسه با تیمار شاهد، طول ساقه چه در تیمار هشت درصد PEG به میزان ۴۷/۷۴ درصد کاهش یافت (از ۲/۲۲ به ۱/۱۶ سانتی‌متر)، در حالی که طول ریشه چه کاهش شدیدتری (۵۹/۳۴ درصد) را تجربه کرد (از ۴/۹۲ به دو سانتی‌متر رسید). این

کاهش، که در ریشه‌چه شدت بیشتری داشت، می‌تواند ناشی از حساسیت بیشتر ریشه به محدودیت‌های آبی اولیه و اختلال در تقسیم و طویل شدن یاخته‌ها باشد. در تیمار شاهد، شاخص بنیه برابر با ۵۲۵/۶ بود که در تیمار چهار درصد PEG به ۱۹۶ و در هشت درصد PEG به ۱۲۷/۲۲ کاهش یافت. این افت معادل ۷۵/۷۹ درصد کاهش نسبت به شرایط بدون تنش است. کاهش بنیه بذر به‌طور مستقیم با افت درصد تنژیدن و کاهش طول اندام‌های گیاهچه مرتبط است و بیانگر کاهش توان رشد اولیه بذر در شرایط کمبود آب می‌باشد (Beyaz, 2022). در پژوهشی افزایش سطح تنش شوری سبب کاهش قابل توجه طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه عدس الملک شده است، به طوری که طول ساقه‌چه از ۲/۹۸ سانتی‌متر در شرایط شاهد به ۰/۵۳ سانتی‌متر و طول ریشه‌چه از ۸/۱۰ به ۰/۵۹ سانتی‌متر در بالاترین غلظت شوری (۲- مگاپاسکال) کاهش یافته است (Moradian et al., 2024).

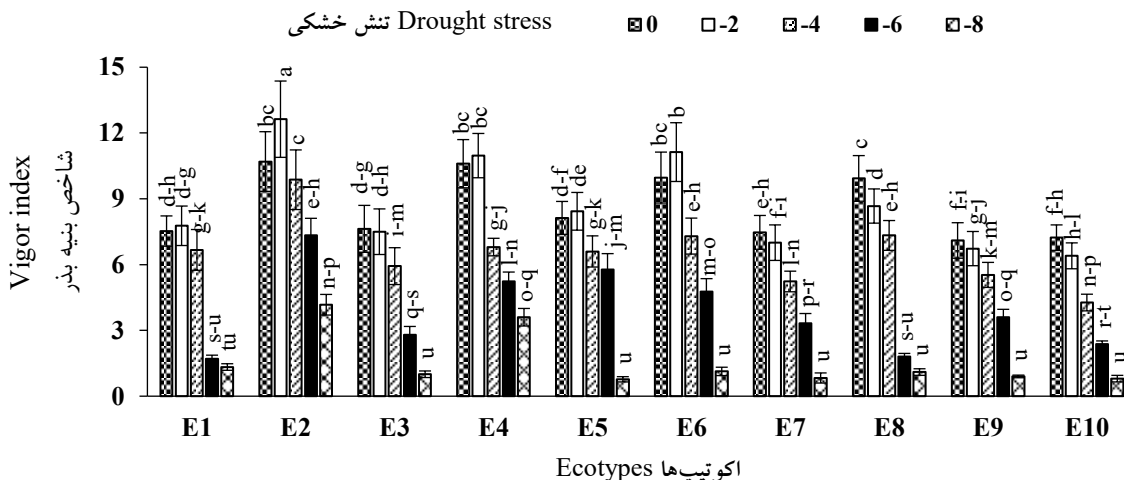
جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی بر طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و طول گیاهچه.

Table 3. Mean comparison of the interaction of drought stress and different crownvetch ecotypes on radicle length, hypocotyl length and seedling length

| اکوتیپ Ecotype                                         |                                        | E1                 | E2                 | E3                 | E4                 | E5                 | E6                 | E7                 | E8                 | E9                 | E10                |                  |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| طول ریشه‌چه<br>(سانتی متر)<br>Radicle length<br>(cm)   | تنش خشکی (بار)<br>Drought stress (bar) | 0                  | 5.6 <sup>j</sup>   | 9 <sup>c</sup>     | 6.4 <sup>h</sup>   | 8.6 <sup>d</sup>   | 7.1 <sup>g</sup>   | 9 <sup>c</sup>     | 5.9 <sup>i</sup>   | 7.9 <sup>e</sup>   | 5.9 <sup>i</sup>   | 5.9 <sup>i</sup> |
|                                                        |                                        | -2                 | 5.8 <sup>i</sup>   | 10.6 <sup>a</sup>  | 6.5 <sup>h</sup>   | 8.9 <sup>c</sup>   | 7.6 <sup>f</sup>   | 9.4 <sup>b</sup>   | 5 <sup>m</sup>     | 7.9 <sup>e</sup>   | 5.4 <sup>k</sup>   | 5.4 <sup>k</sup> |
|                                                        |                                        | -4                 | 5.5 <sup>kj</sup>  | 8.6 <sup>d</sup>   | 5.6 <sup>j</sup>   | 5.9 <sup>i</sup>   | 5.5 <sup>kj</sup>  | 6.5 <sup>h</sup>   | 4.8 <sup>n</sup>   | 5.8 <sup>i</sup>   | 4.5 <sup>o</sup>   | 4.5 <sup>o</sup> |
|                                                        |                                        | -6                 | 2.6 <sup>s</sup>   | 6.4 <sup>h</sup>   | 2.2 <sup>t</sup>   | 5.2 <sup>l</sup>   | 4.7 <sup>n</sup>   | 4.5 <sup>o</sup>   | 2.9 <sup>r</sup>   | 2.1 <sup>ut</sup>  | 3.8 <sup>p</sup>   | 2.5 <sup>s</sup> |
|                                                        |                                        | -8                 | 1.6 <sup>w</sup>   | 3.5 <sup>q</sup>   | 1.2 <sup>x</sup>   | 2.9 <sup>r</sup>   | 1.5 <sup>w</sup>   | 2 <sup>u</sup>     | 1.8 <sup>v</sup>   | 2.1 <sup>ut</sup>  | 1.8 <sup>v</sup>   | 1.2 <sup>x</sup> |
| 0                                                      |                                        | 0.9 <sup>f</sup>   | 1.1 <sup>d</sup>   | 0.9 <sup>f</sup>   | 1.3 <sup>b</sup>   | 0.9 <sup>f</sup>   | 1 <sup>e</sup>     | 1 <sup>e</sup>     | 1.2 <sup>c</sup>   | 1.2 <sup>c</sup>   | 1.1 <sup>d</sup>   |                  |
| -2                                                     |                                        | 1 <sup>e</sup>     | 1.2 <sup>c</sup>   | 1.1 <sup>d</sup>   | 1.4 <sup>a</sup>   | 1 <sup>e</sup>     | 1.1 <sup>d</sup>   | 0.9 <sup>f</sup>   | 1.1 <sup>d</sup>   | 1.1 <sup>d</sup>   | 0.9 <sup>f</sup>   |                  |
| -4                                                     |                                        | 0.8 <sup>g</sup>   | 1.1 <sup>d</sup>   | 1 <sup>e</sup>     | 1.1 <sup>d</sup>   | 1.2 <sup>c</sup>   | 1 <sup>e</sup>     | 0.7 <sup>h</sup>   | 1.1 <sup>d</sup>   | 1 <sup>e</sup>     | 0.8 <sup>g</sup>   |                  |
| -6                                                     |                                        | 0.8 <sup>g</sup>   | 0.8 <sup>g</sup>   | 0.8 <sup>g</sup>   | 1 <sup>e</sup>     | 0.8 <sup>g</sup>   | 0.7 <sup>h</sup>   | 0.6 <sup>i</sup>   | 1.1 <sup>d</sup>   | 0.7 <sup>h</sup>   | 0.7 <sup>h</sup>   |                  |
| -8                                                     |                                        | 1 <sup>e</sup>     | 0.7 <sup>h</sup>   | 0.5 <sup>j</sup>   | 0.9 <sup>f</sup>   | 0.7 <sup>h</sup>   | 0.6 <sup>i</sup>   | 0.5 <sup>j</sup>   | 0.6 <sup>i</sup>   | 0.5 <sup>j</sup>   | 0.6 <sup>i</sup>   |                  |
| 0                                                      |                                        | 7.9 <sup>f-h</sup> | 10.8 <sup>bc</sup> | 7.8 <sup>f-i</sup> | 10.8 <sup>bc</sup> | 8.5 <sup>d-f</sup> | 10.1 <sup>c</sup>  | 7.8 <sup>f-i</sup> | 10.2 <sup>c</sup>  | 7.3 <sup>g-j</sup> | 7.6 <sup>g-j</sup> |                  |
| -2                                                     |                                        | 8.1 <sup>e-g</sup> | 12.9 <sup>a</sup>  | 8.1 <sup>e-g</sup> | 11.5 <sup>b</sup>  | 8.8 <sup>de</sup>  | 11.3 <sup>b</sup>  | 7.5 <sup>g-j</sup> | 9.1 <sup>d</sup>   | 7 <sup>ij</sup>    | 6.9 <sup>j</sup>   |                  |
| -4                                                     |                                        | 7 <sup>ij</sup>    | 10.1 <sup>c</sup>  | 6.9 <sup>j</sup>   | 7.5 <sup>g-j</sup> | 7.1 <sup>h-j</sup> | 8.1 <sup>e-g</sup> | 5.9 <sup>lm</sup>  | 8.5 <sup>d-f</sup> | 6.8 <sup>kj</sup>  | 5.1 <sup>m-o</sup> |                  |
| -6                                                     |                                        | 3.6 <sup>p</sup>   | 7.9 <sup>f-h</sup> | 3.5 <sup>p</sup>   | 6 <sup>kl</sup>    | 6 <sup>kl</sup>    | 5.6 <sup>l-n</sup> | 5.2 <sup>l-o</sup> | 3.5 <sup>p</sup>   | 4.5 <sup>o</sup>   | 3.6 <sup>p</sup>   |                  |
| -8                                                     |                                        | 3 <sup>p</sup>     | 4.9 <sup>no</sup>  | 2.8 <sup>p</sup>   | 4.5 <sup>o</sup>   | 3 <sup>p</sup>     | 3.1 <sup>p</sup>   | 2.8 <sup>p</sup>   | 3 <sup>p</sup>     | 2.9 <sup>p</sup>   | 3 <sup>p</sup>     |                  |
| طول ساقه‌چه<br>(سانتی متر)<br>Hypocotyl<br>length (cm) |                                        |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                  |
| طول گیاهچه<br>(سانتی متر)<br>Seedling<br>length (cm)   |                                        |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                  |

برای هر صفت، میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند

For each trait, means followed by the same letter are not significantly different according to the LSD test at the 1% probability level



شکل ۴- مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی بر شاخص بیه بذر. میله‌ها نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (SE) بر اساس سه تکرار ( $n=3$ ) هستند.

Fig. 3. Comparison of the mean interaction effect of drought stress and different crown vetch ecotypes on seed vigor index. Bars represent the mean  $\pm$  SE ( $n = 3$ ).

### وزن خشک گیاهچه و ضریب آلومتریک

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی نشان داد که با افزایش تنش خشکی وزن خشک گیاهچه کاهش یافت. بیشترین وزن خشک گیاهچه (۰/۰۹۶) در تیمار ۲- بار در اکوتیپ نهاوند و کمترین وزن خشک گیاهچه (۰/۰۲۱) در تیمار ۸- بار در اکوتیپ‌های پاوه، سقز و مریوان مشاهده شد. بیشترین ضریب آلومتریک (۹/۰۲) در تیمار ۲- بار در اکوتیپ نهاوند و کمترین ضریب آلومتریک (۲/۰۴) در تیمار ۸- بار در اکوتیپ مریوان مشاهده شد (جدول ۴). در پژوهش حاضر، اثر تنش خشکی بر وزن خشک گیاهچه بسته به شدت تنش و اکوتیپ مورد بررسی، متفاوت بوده است. در برخی اکوتیپ‌ها، تیمار تنش ملایم (۲- بار) منجر به افزایش نسبی وزن خشک گیاهچه نسبت به تیمار شاهد شد که می‌تواند ناشی از تحریک رشد ریشه و اندام هوایی و بهره‌گیری مؤثرتر از ذخایر بذر در این شرایط باشد. این روند در اکوتیپ‌های متحمل به خشکی بیشتر مشاهده شد. اما با افزایش شدت تنش به ۴-، ۶- و به‌ویژه ۸- بار، روند کاهش وزن خشک در اغلب اکوتیپ‌ها معنی‌دار گردید. این کاهش ممکن است ناشی از محدودیت جذب آب، اختلال در تقسیم و طویل شدن یاخته‌ی و کاهش سنتز مواد خشک باشد. یافته‌های این تحقیق در سطح تنش‌های بالا (به‌ویژه ۶- و ۸- بار) با نتایج (Quan *et al.*, 2023) هم‌راستا است که در آن نیز کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاهچه با کاهش پتانسیل اسمزی گزارش شد. با این حال، برخلاف نتایج آن پژوهش که کاهش وزن خشک در تمامی تیمارهای تنش خشکی مشاهده شد، در پژوهش حاضر برخی اکوتیپ‌ها در تنش ملایم (۲- بار) افزایش وزن خشک نشان دادند که بیانگر واکنش افتراقی اکوتیپ‌ها و نقش مؤثر ظرفیت سازگاری ژنتیکی در این مرحله است. ضریب آلومتریک، به‌عنوان شاخصی کارآمد برای ارزیابی تعادل رشد اندام‌های هوایی و زیرزمینی در شرایط تنش محیطی شناخته می‌شود. در برخی پژوهش‌ها از نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه (Ebrahimi, 2013; Ebrahimi & Miri, 2016) و برخی دیگر از نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه حاصل می‌گردد (Khadraji *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2023). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که این ضریب در تمام اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی بجز اکوتیپ سروآباد، اثر تیمارهای خشکی القا شده توسط PEG دارای روند مشخصی نمی‌باشد ولی در تمامی اکوتیپ‌ها در تنش ۸- بار نسبت به سایر سطوح کاهش ضریب آلومتریک مشاهده شد که به احتمال به دلیل حساسیت بیشتر رشد ساقه نسبت به ریشه در شرایط محدودیت اسمزی است، زیرا گیاهچه‌ها تمایل دارند رشد ریشه را جهت افزایش ظرفیت جذب آب حفظ کرده و رشد اندام

هوایی را محدود نمایند (Khadraji et al., 2022). همچنین در اکوتیپ نه‌اوند در تیمار ۲- بار، مشاهده شد که ضریب آلومتریک نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت که می‌تواند ناشی از تحریک رشد نسبی ساقه در مرحله آغازین تنزیدن در شرایط تنش ملایم باشد. این پدیده در برخی اکوتیپ‌ها بیشتر مشاهده شد و نشان‌دهنده تفاوت‌های ژنتیکی در واکنش به تنش است. در مطالعه‌ای گزارش شد که افزایش شدت خشکی به‌طور معنی‌داری موجب کاهش رشد ساقه و ریشه شده، اما میزان کاهش در ساقه بیش از ریشه بوده و در نتیجه، ضریب آلومتریک کاهش یافته است (Zhang et al., 2023).

جدول ۴- مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های مختلف یونجه‌باغی بر وزن خشک گیاهچه و ضریب آلومتریک.

Table 4. Mean comparison of the interaction of drought stress and different crownvetch ecotypes on Seedling dry weight and Allometric coefficient.

| اکوتیپ<br>Ecotype | وزن خشک ۱۵ گیاهچه ( گرم)<br>15 Seedling dry weight (gr) |                      |                      |                     |                      | ضریب آلومتریک<br>Allometric coefficient |                     |                     |                     |                     |
|-------------------|---------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                   | Drought stress (bar)                                    |                      |                      |                     |                      | تنش خشکی (بار)                          |                     |                     |                     |                     |
|                   | 0                                                       | -2                   | -4                   | -6                  | -8                   | 0                                       | -2                  | -4                  | -6                  | -8                  |
| E1                | 0.059 <sup>gh</sup>                                     | 0.06 <sup>gh</sup>   | 0.052 <sup>jk</sup>  | 0.027 <sup>p</sup>  | 0.022 <sup>qr</sup>  | 6.35 <sup>h-k</sup>                     | 5.92 <sup>k-o</sup> | 7.02 <sup>fg</sup>  | 3.32 <sup>u</sup>   | 1.63 <sup>z</sup>   |
| E2                | 0.08 <sup>cd</sup>                                      | 0.096 <sup>a</sup>   | 0.075 <sup>e</sup>   | 0.059 <sup>gh</sup> | 0.036 <sup>no</sup>  | 8.35 <sup>bc</sup>                      | 9.02 <sup>a</sup>   | 7.98 <sup>cd</sup>  | 8.17 <sup>cd</sup>  | 5.11 <sup>p-s</sup> |
| E3                | 0.058 <sup>hi</sup>                                     | 0.06 <sup>gh</sup>   | 0.051 <sup>k</sup>   | 0.026 <sup>pq</sup> | 0.021 <sup>r</sup>   | 7.26 <sup>f</sup>                       | 6.03 <sup>j-l</sup> | 5.72 <sup>l-o</sup> | 2.81 <sup>vw</sup>  | 2.45 <sup>wx</sup>  |
| E4                | 0.08 <sup>cd</sup>                                      | 0.085 <sup>b</sup>   | 0.056 <sup>h-j</sup> | 0.044 <sup>l</sup>  | 0.033 <sup>o</sup>   | 6.76 <sup>hg</sup>                      | 6.49 <sup>h-j</sup> | 5.47 <sup>o-q</sup> | 5.31 <sup>o-r</sup> | 3.29 <sup>uv</sup>  |
| E5                | 0.063 <sup>fg</sup>                                     | 0.065 <sup>f</sup>   | 0.053 <sup>jk</sup>  | 0.044 <sup>l</sup>  | 0.022 <sup>qr</sup>  | 8.05 <sup>cd</sup>                      | 7.76 <sup>de</sup>  | 4.68 <sup>st</sup>  | 6 <sup>k-m</sup>    | 2.19 <sup>xy</sup>  |
| E6                | 0.075 <sup>e</sup>                                      | 0.084 <sup>bc</sup>  | 0.06 <sup>gh</sup>   | 0.041 <sup>lm</sup> | 0.023 <sup>p-r</sup> | 9.19 <sup>a</sup>                       | 8.73 <sup>ab</sup>  | 6.64 <sup>gh</sup>  | 6.56 <sup>g-i</sup> | 3.4 <sup>u</sup>    |
| E7                | 0.058 <sup>hi</sup>                                     | 0.056 <sup>h-j</sup> | 0.044 <sup>l</sup>   | 0.039 <sup>mn</sup> | 0.021 <sup>r</sup>   | 6.02 <sup>j-m</sup>                     | 5.67 <sup>l-o</sup> | 7 <sup>fg</sup>     | 4.93 <sup>r-t</sup> | 3.68 <sup>u</sup>   |
| E8                | 0.076 <sup>de</sup>                                     | 0.067 <sup>f</sup>   | 0.063 <sup>fg</sup>  | 0.026 <sup>pq</sup> | 0.022 <sup>qr</sup>  | 6.72 <sup>gh</sup>                      | 7.33 <sup>ef</sup>  | 5.38 <sup>o-r</sup> | 1.95 <sup>yz</sup>  | 3.57 <sup>u</sup>   |
| E9                | 0.054 <sup>i-k</sup>                                    | 0.052 <sup>jk</sup>  | 0.05 <sup>k</sup>    | 0.033 <sup>o</sup>  | 0.021 <sup>r</sup>   | 5.02 <sup>q-t</sup>                     | 5.01 <sup>q-t</sup> | 4.59 <sup>t</sup>   | 5.54 <sup>m-p</sup> | 3.68 <sup>u</sup>   |
| E10               | 0.056 <sup>h-j</sup>                                    | 0.051 <sup>k</sup>   | 0.038 <sup>mn</sup>  | 0.027 <sup>p</sup>  | 0.022 <sup>qr</sup>  | 5.47 <sup>n-q</sup>                     | 6.13 <sup>i-l</sup> | 5.74 <sup>l-o</sup> | 3.65 <sup>u</sup>   | 2.04 <sup>x-z</sup> |

برای هر صفت، میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند. For each trait, means followed by the same letter are not significantly different according to the LSD test at the 1% probability level.

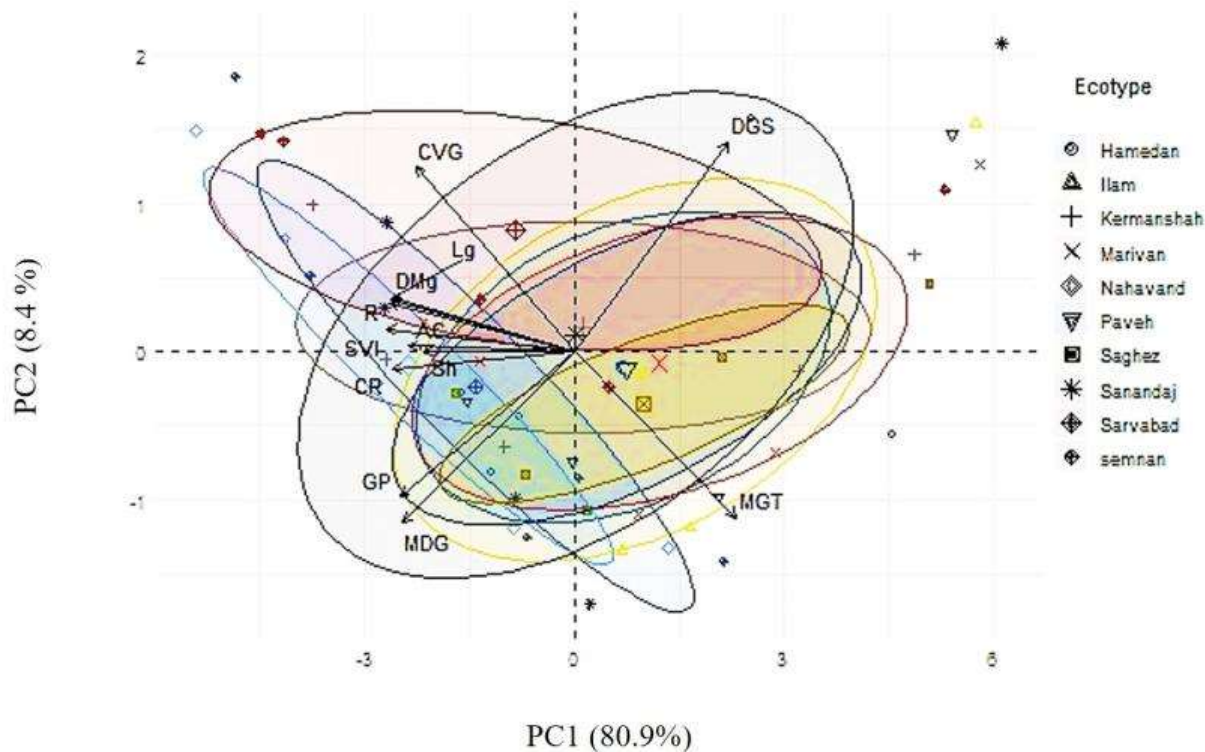
#### واکاوی مؤلفه‌های اصلی شاخص‌های تنزیدن بذر و رشدی اکوتیپ‌های یونجه‌باغی تحت تنش خشکی

برای ساده‌سازی داده‌ها و شناسایی صفات کلیدی مرتبط با تحمل خشکی، واکاوی مؤلفه‌های اصلی (PCA) روی شاخص‌های تنزیدن بذر و رشد در اکوتیپ‌های یونجه‌باغی و تنش خشکی انجام شد. نتایج نشان داد که سه مؤلفه اصلی بیش از ۹۳ درصد واریانس کل داده‌ها را توضیح می‌دهند، به‌طوری‌که PC1، PC2 و PC3 به‌ترتیب سهم ۸۰/۹، ۸/۴ و ۴/۸ درصد از واریانس کل را دارند. PC1 بیشترین بار مثبت را برای صفاتی مانند درصد تنزیدن، سرعت تنزیدن، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه بذر داشت. این نشان می‌دهد که PC1 عملکرد کلی و رشد اولیه گیاهچه‌ها را تحت تنش خشکی نشان می‌دهد. اکوتیپ‌هایی که مقدار بالایی در PC1 دارند، رشد بهتری دارند و مقاومت نسبی به خشکی نشان می‌دهند، درحالی‌که اکوتیپ‌های با مقدار منفی، حساس‌تر هستند و رشدشان کاهش می‌یابد. PC2 عمدتاً با صفاتی مثل طول گیاهچه و شاخص آلومتریک مرتبط بود و نمایانگر توانایی گیاهچه‌ها در تقسیم منابع و رشد متعادل در شرایط خشکی است. اکوتیپ‌هایی که مقدار بالایی در PC2 دارند، توانایی بهتری در مدیریت منابع و رشد متوازن دارند. PC3 با میانگین تنزیدن روزانه و ضریب سرعت تنزیدن مرتبط بود و نشان‌دهنده نحوه پاسخ پویای تنزیدن بذرها به تنش خشکی است.

شکل ۵، بای‌پلات دو بعدی بر اساس PC1 و PC2 را نشان می‌دهد. اکوتیپ‌هایی که در بخش مثبت هر دو مؤلفه قرار دارند، رشد بهتر و تنزیدن مناسب‌تری دارند و مقاومت نسبی به خشکی نشان می‌دهند. در مقابل، اکوتیپ‌هایی که در نواحی منفی PC1 و PC2 قرار

دارند، حساس تر هستند و رشد و شاخص بنیه بذر آن‌ها کاهش می‌یابد. جهت و طول بردارهای صفات، همبستگی بین صفات را نشان می‌دهد؛ زاویه کوچک بین درصد تنژیدن، سرعت تنژیدن، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه نشان‌دهنده همبستگی مثبت قوی آن‌ها است، در حالی که فاصله بردار شاخص آلومتریک از این گروه، رابطه معکوس بین رشد اولیه و تقسیم منابع را نشان می‌دهد.

این نتایج نشان می‌دهد که PC1 و PC2 می‌توانند اکوتیپ‌ها را بر اساس توان رشد و تنژیدن تحت خشکی جدا کنند و صفات مهم با اثرگذاری بالا در این مؤلفه‌ها برای واکاوی خوشه‌ای و شناسایی اکوتیپ‌های مقاوم به خشکی مناسب هستند.



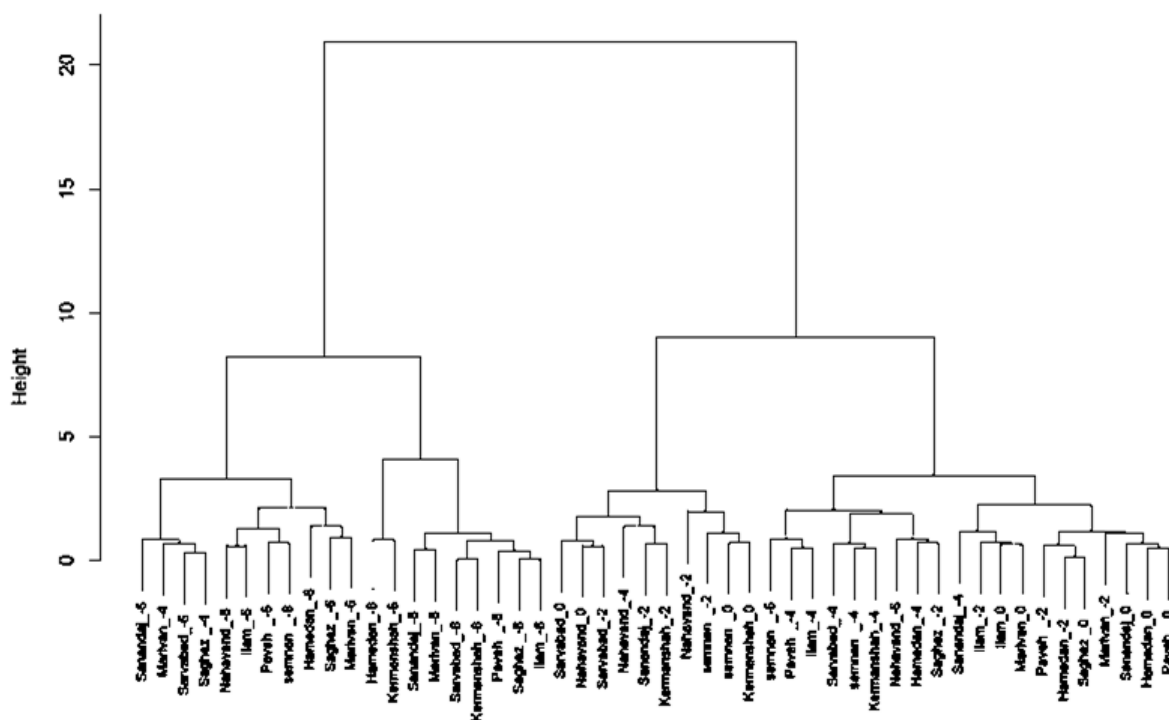
شکل ۵- بای پلات مؤلفه‌های اصلی (PC1 و PC2)، توزیع اکوتیپ‌های یونجه باغی و ارتباط آن‌ها با شاخص‌های تنژیدن بذر و رشد گیاهچه در تنش خشکی.

Fig. 5. PCA biplot (PC1 and PC2) illustrating the distribution of crown vetch ecotypes and their association with seed germination and seedling growth traits, under drought stress.

### واکاوی خوشه‌ای<sup>۱</sup> اکوتیپ‌های یونجه باغی بر اساس صفات رشدی و شاخص‌های تنژیدن بذر تحت تنش خشکی

واکاوی خوشه‌بندی سلسله‌مراتبی بر اساس شاخص‌های تنژیدن بذر و رشد حاصل از PC1 واکاوی مؤلفه‌های اصلی اکوتیپ‌های یونجه‌باغی انجام شد و اکوتیپ‌ها در هر سطح خشکی به سه گروه مقاوم، متوسط و حساس تقسیم شدند (شکل ۶). نتایج نشان داد که اکوتیپ‌های نهاوند و سمنان در بیشتر سطوح خشکی، عملکرد بالایی داشتند و به طور مداوم در گروه مقاوم قرار گرفتند. در مقابل، اکوتیپ‌های همدان، پاوه، ایلام و مریوان با افزایش شدت خشکی عملکردشان کاهش یافت و در گروه حساس جای گرفتند. اکوتیپ‌های سنندج، سقز و کرمانشاه در گروه متوسط قرار داشتند و کاهش عملکرد آن‌ها با افزایش شدت خشکی مشهود بود. در سطح خشکی صفر تا ۴- بار، گروه مقاوم شامل اکوتیپ‌های نهاوند و سمنان بود، گروه حساس اکوتیپ‌های همدان و پاوه را در بر می‌گرفت و گروه

متوسط شامل اکوتیپ‌های سنندج، سقز و کرمانشاه بود. با افزایش شدت خشکی (۶- و ۸- بار)، اکوتیپ‌های سنندج، سقز و کرمانشاه به‌صورت مشخص در گروه متوسط باقی ماندند، اکوتیپ‌های نهاوند و سمنان همچنان مقاوم ماندند و اکوتیپ‌های همدان، پاوه، ایلام و مریوان حساس را تشکیل دادند (شکل ۶). این نتایج نشان می‌دهد که توانایی اکوتیپ‌های مختلف یونجه باغی در مقابله با خشکی بر اساس شاخص‌های مؤثر تنژیدن بذر و رشد متفاوت است و اکوتیپ‌های نهاوند و سمنان گزینه‌های مقاوم و مناسب برای کشت در شرایط خشکی بالا محسوب می‌شوند، درحالی‌که اکوتیپ‌های همدان، پاوه، ایلام و مریوان حساس به خشکی هستند.



شکل ۶- دندروگرام برهمکنش تنش خشکی و اکوتیپ‌های یونجه باغی بر اساس خوشه‌بندی سلسله‌مراتبی با روش Ward. خوشه‌بندی بر اساس صفات کلیدی با بیشترین بارگذاری روی مؤلفه اصلی اول (PC1) است.

Fig. 6. Dendrogram illustrating the interaction effects of drought stress and crown vetch ecotypes, created using hierarchical clustering with Ward's method. The clustering was based on key traits that exhibited the highest loadings on the first principal component (PC1).

## نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که تنش خشکی ایجاد شده با PEG، تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی مرحله تنژیدن بذر در اکوتیپ‌های مختلف یونجه باغی دارد. با افزایش شدت تنش (از صفر به ۸- بار)، درصد و سرعت تنژیدن، میانگین تنژیدن روزانه، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه بذر و ضریب آلومتریکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند، در حالی‌که میانگین زمان تنژیدن و ضریب سرعت تنژیدن، افزایش نشان دادند. این تغییرات، بیانگر اختلال در جذب آب، کاهش فعالیت‌های متابولیکی و کاهش توان زیستی بذر در شرایط پتانسیل اسمزی پایین است.

اکوتیپ‌های مختلف، واکنش متفاوتی به تنش خشکی نشان دادند. اکوتیپ نهاوند در بیشتر تیمارهای تنش، به‌ویژه در شدت‌های ملایم (۲- بار)، عملکرد بهینه‌تری داشت و توانست درصد تنژیدن، سرعت تنژیدن، رشد ریشه و شاخص بنیه بذر بالاتری را حفظ

کند. همچنین، اکوتیپ سمنان نیز در برخی شاخص‌ها از جمله طول ساقچه و ضریب سرعت تنژیدن، مقاومت مناسبی نشان داد. در مقابل، اکوتیپ‌های مریوان، سقز و پاوه بیشترین افت را در بیشتر شاخص‌ها داشتند و حساسیت بالایی به تنش نشان دادند. به‌ویژه در تیمار ۸- بار، کاهش شدیدی در رشد گیاهچه و مؤلفه‌های آن مشاهده شد که بیانگر محدودیت جدی در توان رویشی در تنش‌های شدید خشکی است. افزون بر این، ضریب آلومتریک به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی تعادل رشد بین اندام‌های هوایی و زیرزمینی تحت تنش خشکی، در سطوح شدید تنش کاهش یافت و نشان داد که گیاهچه‌ها در پاسخ به کم‌آبی، رشد اندام هوایی را محدود و رشد ریشه را به‌نسبت حفظ می‌کنند. این رفتار می‌تواند نوعی سازوکار سازگاری برای افزایش توانایی جذب آب از محیط تلقی شود. از دیدگاه کاربردی، اکوتیپ‌هایی مانند نهاوند و سمنان که توانایی تنژیدن و رشد اولیه خود را تحت تنش خشکی حفظ کرده‌اند، می‌توانند به‌عنوان منابع ژنتیکی ارزشمند در برنامه‌های به‌نژادی برای افزایش تحمل به خشکی به‌کار روند. همچنین، با توجه به نتایج مرحله استقرار، این اکوتیپ‌ها پتانسیل مناسبی برای کاربرد در فضای سبز مناطق خشک یا کم‌آب دارند، به‌ویژه اگر عملکرد بهینه آن‌ها در مراحل رشد بعدی نیز تأیید شود. به‌طور کلی، شاخص‌هایی مانند بنیه بذر، سرعت تنژیدن روزانه، میانگین تنژیدن و ضریب آلومتریک می‌توانند به‌عنوان ابزارهای غربالگری مؤثر در شناسایی اکوتیپ‌های متحمل به خشکی در مراحل اولیه رشد معرفی شوند.

## References

## منابع

- Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13(6), 630–633. <https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x>
- Aghighi Shahverdikandi, M., Tobeh, A., Jahanbakhsh Godehkahriz, S., & Rastegar, Z. (2011). The study of germination index of canola cultivars for drought resistance. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 2(3), 89–95. <http://www.victorquestpub.com>
- Ahmed, M., Kheir, A. M. S., Mehmood, M. Z., Ahmad, S., & Hasanuzzaman, M. (2022). Changes in germination and seedling traits of sesame under simulated drought. *Phyton*, 91(4), 713–726. <https://doi.org/10.32604/phyton.2022.018552>
- Alhammad, B. A., Ahmad, A., Seleiman, M. F., & Tola, E. (2023). Seed priming with nanoparticles and 24-epibrassinolide improved seed germination and enzymatic performance of *Zea mays* L. in salt-stressed soil. *Plants*, 12(4), 690. <https://doi.org/10.3390/plants12040690>
- Balouchi, H., Soltani Khankahdani, V., Moradi, A., Gholamhoseini, M., Piri, R., Heydari, S. Z., & Dedicova, B. (2023). Seed fatty acid changes germination response to temperature and water potentials in six sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: Estimating the cardinal temperatures. *Agriculture*, 13(10), 1936. <https://doi.org/10.3390/agriculture13101936>
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M., & Nonogaki, H. (2013). *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy* (3rd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- Brenchley, J. L., & Probert, R. J. (1998). Seed germination responses to some environmental factors in the seagrass *Zostera capricorni* from eastern Australia. *Aquatic Botany*, 62, 177–188. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(98\)00095-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(98)00095-7)
- Blum, A. (1988). *Plant Breeding for Stress Environments* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351075718>
- Bulut, H., & Gürkan, H. (2017). Drought stress due to climate change and effects on plants. In *Proceedings of the 8th Atmospheric Sciences Symposium* (pp. 123–130). Istanbul, Turkey.
- Beyaz, R. (2023). Germination and seedling properties of *Lotus corniculatus* L. under simulated drought stress. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(4), 879–889. <https://doi.org/10.33462/jotaf.1226444>
- Ebrahimi, O., Esmaili, M. M., Saboori, H., & Tahmasbi, A. (2013). Effect of drought and salinity stress on germination of *Trifolium pratense*, *Vicia sativa*, and *Sanguisorba minor*. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(3), 384–388.
- Ebrahimi, M., & Miri, E. (2016). Effect of humic acid on seed germination and seedling growth of *Borago officinalis* and *Cichorium intybus*. *Ecopersia*, 4(1), 1239–1249. <https://doi.org/10.18869/modares.ecopersia.4.1.1239>
- Feng, J., Wang, D., Changyong, S., Lili, Z., & Tang, X. (2017). Effects of cold plasma treatment on alfalfa seed growth under simulated drought stress. *Environmental Research Letters*, 12(11), 115006. <https://doi.org/10.1088/2058-6272/aa9b27>
- Fu, B., Lan, J., Li, X., & Gao, X. (2012). Effects of PEG-6000-induced drought stress on seed germination of 16 alfalfa (*Medicago sativa*) varieties. *Seed*, 31(4), 10–14. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-4705.2012.04.003>



- Gad, M., Chao, H. B., Li, H. X., Zhao, W. G., Lu, G. Y., & Li, M. T. (2021). QTL mapping for seed germination response to drought stress in *Brassica napus*. *Frontiers in Plant Science*, 11, 629970. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.629970>
- Ghaffari, H., & Tadayyon, M. R. (2019). Effect of proline on seed germination traits of sugar beet (cv. Kastil) under drought stress [In Persian]. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 7(2), 107–118. <https://doi.org/10.22034/ijssst.2019.109919.1074>
- Gao, S., Fan, Y. C., Yu, M. Y., Zhang, J. W., & Wang, J. F. (2023). Effects of drought stress on seed germination and seedling growth of alfalfa with different seed coat colors. *Legume Research*, 46(10), 1339–1344. <https://doi.org/10.18805/LRF-747>
- Gustine, D. L., & Moyer, B. G. (1990). Crownvetch (*Coronilla varia* L.). In *Legumes and Oilseed Crops I* (Vol. 10, Issue 1, pp. 341–354). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-74448-8\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-642-74448-8_15)
- Himaja, R., Radhika, K., Reddy, K. B., & Raghavendra, M. (2023). Screening of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes for germination and early seedling growth under PEG 6000 induced drought stress. *Legume Research: An International Journal*, 46(7), 813–821. <https://doi.org/10.18805/LR-6375>
- Karimian, Z., Farashi, A., Samiei, L., & Alizadeh, M. (2020). Predicting potential sites of nine drought-tolerant native plant species in urban regions. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 93, 84–94. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2020.093.011>
- Khadraji, A., Houasli, C., & Ghoulam, C. (2022). Effects of short and long-term hydro priming on germination stage and growth of some varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Seeds*, 7, 8.
- Khodarahmpour, Z. (2011). Effect of drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) on germination indices in corn (*Zea mays* L.) hybrids. *African Journal of Biotechnology*, 10(79), 18222–18227. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2639>
- Le, M., Chen, N., Han, G.-J., & Li, L. (2017). Effects of exogenous salicylic acid on seed germination and physiological characteristics of *Coronilla varia* under drought stress. *Chinese Journal of Ecology*, 36(10), 2709–2716. <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.201710.004>
- Ma, L., Wei, J., Han, G., Sun, X., & Yang, X. (2024). Seed osmopriming with polyethylene glycol (PEG) enhances seed germination and seedling physiological traits of *Coronilla varia* L. under water stress. *PLOS ONE*, 19(5), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0302197>
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination—Aids in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(2), 176–177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- Michel, B. E., & Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51(5), 914–916. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>
- Molano-Flores, B. (2014). An invasive plant species decreases native plant reproductive success. *Natural Areas Journal*, 34(4), 465–470. <https://doi.org/10.3375/043.034.0411>
- Molor, A., Khajidsuren, A., Myagmarjav, U., & Vanjildorj, E. (2016). Comparative analysis of drought tolerance of *Medicago* L. plants under stressed conditions. *Mongolian Journal of Agricultural Sciences*, 19(3), 36–41. <https://doi.org/10.5564/mjas.v19i3.733>
- Osborne, J. M., Fox, J. E. D., & Mercer, S. (1993). Germination response under elevated salinities of six semi-arid blue bush species (Western Australia). In H. Lieth & A. Al Masoom (Eds.), *Towards the rational use of high salinity plants* (Vol. 1, pp. 323–338). Springer, Berlin/Heidelberg, Germany.
- Queiroz, M. S., Oliveira, C. E. S., Steiner, F., Zuffo, A. M., Zoz, T., Vendruscolo, E. P., Silva, M. V., Mello, B. F. F. R., Cabral, R. C., & Menis, F. T. (2019). Drought stresses on seed germination and early growth of maize and sorghum. *Journal of Agricultural Science*, 11(2), 310–320. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n2p310>
- Ranal, M. A., & Santana, D. G. de. (2006). How and why to measure the germination process? *Brazilian Journal of Botany*, 29(1), 1–11. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>
- Safari, S., Nazari, F., Vafae, Y., & Teixeira da Silva, J. A. (2023). Impact of rice husk biochar on drought stress tolerance in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 810–826. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10588-3>
- Salehi Shanjani, P., Rasoulzadeh, L., & Javadi, H. (2023). Evaluation of morphological traits in the populations of *Coronilla varia* L. *Journal of Rangeland Science*, 13(1), 52–71.
- Santos, O. O., Falcão, H., Antonino, A. C. D., Lima, J. R. S., Lustosa, B. M., & Santos, M. G. (2014). Desempenho ecofisiológico de milho, sorgo e braquiária sob déficit hídrico e reidratação. *Bragantia*, 73(2), 203–212. <https://doi.org/10.1590/brag.2014.018>
- Scott, S. J., Jones, R. A., & Williams, W. A. (1984). Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*, 24, 1192–1199. <https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400060049x>

- Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroglu, T., Abdul-Wajid, H. H., & Battaglia, M. L. (2021). Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, 10(2), 259. <https://doi.org/10.3390/plants10020259>
- Souza, M. L., & Fagundes, M. (2014). Seed size as key factor in germination and seedling development of *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae). *American Journal of Plant Science*, 5, 2566–2573. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.517270>
- Texeira, L. R., Braccini, A. L., Sperandio, D., Scapim, C. A., Schuster, I., Vigano, J., & Jaremtchuk, C. C. (2008). Avaliação de cultivares de soja quanto à tolerância ao estresse hídrico. *Revista Ceres*, 55(2), 194–202. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v30i2.1731>
- Vivanco, P., Oliveira, J. A., & Martín, I. (2021). Optimal germination conditions for monitoring seed viability in wild populations of fescues. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 19(3), e0703. <https://doi.org/10.5424/sjar/2021193-17451>
- Yerlikaya, S., Baloglu, M.C., Altunoglu, Y.C., Diuzheva, A., Jeko, J., Cziaky, Z., & Zengin, G. (2021). Exploring *Coronilla varia* L. extracts as a source of high-value natural agents: chemical profiles and biological connections. *South African Journal of Botany*, 143, 382–392. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.07.026>
- Yousefi, A. R., Rashidi, S., Moradi, P., & Mastinu, A. (2020). Germination and seedling growth responses of *Zygophyllum fabago*, *Salsola kali* L., and *Atriplex canescens* to PEG-induced drought stress. *Environments*, 7(107), 1–10. <https://doi.org/10.3390/environments7110107>
- Zhang, X., Zhang, J., Sun, Y., Han, Y., Zhang, L., & Wang, D. (2023). Seed coat color affects seed germination and seedling growth of alfalfa under drought stress. *Legume Research*, 46(10), 1235–1243. <https://doi.org/10.18805/LR-6581>
- Zhou, Z. M., Fan, J. B., Zhang, J., Yang, Y. M., Zhang, Y. F., Zan, X. F., et al. (2022). OsMLP423 is a positive regulator of tolerance to drought and salt stress in rice. *Plants*, 11, 1653. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1512195/v1>

## Evaluation of Drought Tolerance Potential at the Germination Stage in Different Ecotypes of Crownvetch (*Securigera varia* L.), a Native Species with Ornamental Value and Landscape Application

Rahimeh Saberfar<sup>1</sup>, Farzad Nazari<sup>\*2</sup>, Gholamreza Heidari<sup>1</sup>, Sirwan Babaei<sup>1</sup>, Ayoub Molaahmad Nalousi<sup>1</sup>

1. Department of Plant Production and Genetic Engineering, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

2. Department of Horticultural Science and Engineering, University of Kurdistan, Sanadaj, Iran.

\*Corresponding Author, Email: (f.nazari@uok.ac.ir)

To evaluate the effects of drought stress on seed germination and seedling growth traits in different ecotypes of crown vetch (*Securigera varia* L.), a factorial experiment was conducted using a completely randomized design with three replications. Ten native seed ecotypes were collected from Hamadan, Nahavand, Paveh, Semnan, Sanandaj, Sarvabad, Saghez, Kermanshah, Ilam, and Marivan. Drought stress was imposed using polyethylene glycol (PEG 6000) solutions at osmotic potentials of 0 (control), -2, -4, -6, and -8 bar. After 14 days, traits including germination percentage and rate, mean germination time, radicle and plumule length, seedling dry weight, seed vigor index, and allometric coefficient were measured. Results indicated that increasing drought intensity from 0 to -8 bar significantly reduced germination and seedling growth indices. Germination percentage declined from 100% in some ecotypes to 37.67% in the Marivan ecotype at -8 bar, while the Nahavand ecotype exhibited the highest germination rate (85.33%) at the same stress level. The germination rate decreased from 5.29 under control conditions to 0.73 under severe stress in the Marivan ecotype. The mean daily germination in the Nahavand ecotype decreased from 1.7 (control) to 0.63 (-8 bar), whereas the Sanandaj ecotype demonstrated the greatest reduction from 6.9 to 1.7. Mean germination time increased with stress severity, reaching 6.9 days in the Hamadan ecotype at -8 bar compared to 2.5 days under control conditions. Daily germination speed also decreased, reaching a minimum of 0.15 under severe stress, while the germination rate coefficient in the Semnan ecotype increased to a maximum of 0.20 under mild stress (-2 bar). Radicle and plumule lengths, seedling dry weight, and seed vigor index decreased across all ecotypes, with the allometric coefficient showing significant reductions, particularly in the Sanandaj, Marivan, and Saghez ecotypes. Overall, drought stress negatively affected physiological processes and water uptake efficiency, leading to diminished seed vigor and uniformity. Based on hierarchical cluster analysis, Nahavand and Semnan ecotypes exhibited high performance across most drought levels and were classified in the tolerant group, indicating their potential for use in breeding programs and cultivation under water-limited conditions.

**Keywords:** Cluster analysis, Germination percentage, Germination rate, Growth indices, Seed vigor index.