

بررسی تاثیر خشکی بر روی رشد و گره‌زایی سه گونه شبدر

• عبدالحمید حاجبی، کارشناس ارشد مرکز تحقیقات منابع طبیعی هرمزگان
• حسین حیدری شریف آباد، عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

تاریخ دریافت: مردادماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۱۳۸۳

Email:Hamid_Hajebi@yahoo.com

چکیده:

با توجه به اهمیت شبدر در کشاورزی ایرانی و همچنین آب و هوای خشک اغلب قطبهای کشاورزی کشور، لازم است گونه های شبدر در شرایط مناسب رطوبتی و همچنین کمبود آب مورد مطالعه قرار گیرند تا بتوان گونه‌هایی که دارای مقاومت به خشکی مناسب و در عین حال قدرت گره‌زایی بیشتری هستند، انتخاب گردند. بدین منظور سه گونه شبدر در شرایط متفاوت رطوبتی مورد آزمون میزان جوانه زنی قرار گرفتند تا قدرت جوانه زنی هر کدام از آنها در شرایط تنش کمبود آب مورد بررسی قرار گیرد. سپس در آزمایش دوم از نظر رشد گیاهچه ای و قدرت گره‌زایی در شرایط مختلف رطوبتی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بین گونه‌ها، گونه *Trifolium subterraneum* دارای بیشترین درصد و سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و هیپوکوتیل می‌باشد و گونه *Trifolium michelianum* کمترین درصد و سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و هیپوکوتیل را دارد. در مرحله گیاهچه ای گونه *Trifolium subterraneum* بیشترین تعداد گره، وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه و طول ریشه چه و هیپوکوتیل را دارا بوده است و نتیجه کلی اینکه گونه *Trifolium subterraneum* بیشترین مقاومت به خشکی را داشته و عملکرد بالاتری نسبت به گونه های دیگر در شرایط خشکی دارد.

کلمات کلیدی: خشکی، گره‌زایی، شبدر، PEG

Pajouhesh & Sazandegi No 66 pp: 13-22

Investigation of effect of drought on growth and nodulation of three species of clover

By: A.H.Hajebi. Agriculture and Natural Resources Research Center of Hormozgan Province, and H. Heidari Sharif Abad, Research Institute of Forests and Rangelands

Importance of clover in Iran agriculture and also dry climate of most agricultural regions, evaluation of different species in different water supply conditions specially in water deficit conditions seems to be necessary. The best dry tolerant species possess highest number of nodes. In this study germination rate of three species of clover were tested to evaluate their germination potential in different water deficit conditions. Results indicates that in different osmotic potentials (artificially caused by polyethyleneglycol) among clover species *Trifolium subterraneum* represents highest average germination rate and percent as well as, high hypocotyl and radicle length, and *T. michelianum* exhibits the lowest averages. In seedling stage of clover species *T. subterraneum* showed highest number of nodes, dry root weight dry stem weight, hypocotyl and radicle length. Finally between clover species, *Trifolium subterraneum* exhibited highest tolerance to drought condition and possess highest yield in comparison with other species.

Keywords:Drought, Nodulation, Clover, PEG

مقدمه

تنش خشکی یک پدیده طبیعی است که در گیاهان بوجود می آید. کمبود آب در گیاه زمانی اتفاق می افتد که میزان تعرق بیش از مقدار جذب آب باشد به عبارت دیگر علت اصلی تنش آب در گیاه افزایش میزان تلفات آب یا کافی نبودن میزان جذب آب و یا ترکیبی از هر دو می باشد که بر اثر آن میزان تلفات آب ناشی از تعرق بر میزان جذب آن توسط ریشه ها پیشی گرفته و در صورت ادامه شرایط مذکور، میزان تنش بیشتر می شود. تنش آب حتی ممکن است در گیاهانی که بطور معمول در یک صبح آفتابی تعرق می کنند ایجاد شود ولی با شدت یافتن تعرق در اواسط روز یا زمانی که جذب آب بوسیله عواملی مانند خشک شدن خاک، تهویه نامناسب یا ترکیبی از عوامل فوق محدود شود، افزایش خواهد یافت (۲۰). آب و نیتروژن از عوامل محدود کننده اصلی برای تولیدات کشاورزی محسوب می گردند. کشاورزان در جهت تهیه به موقع نیتروژن قابل جذب برای گیاه از یک سو و مدیریت خاک (از نظر ذخیره نیتروژن) از سوی دیگر همیشه با مشکلات عدیده ای روبرو هستند. محیط خاک از راه افزایش مواد آلی در خاک مثل بقایای محصولات و بقایای لاشه های حیوانی در کودهای حیوانی، اضافه نمودن کودهای نیتروژنی مثل کودهای نترات، آمونیوم، اوره و غیره و از راه تثبیت نیتروژن که در طبیعت به وقوع می پیوندد و شامل تثبیت بیولوژیک و تثبیت غیر بیولوژیک ازت هوا می باشد، سرشار از نیتروژن می گردد. کودهای نیتروژنه و گیاهان خانواده بقولات دو منبع اصلی تهیه نیتروژن در خاک به حساب می آیند و عوامل جبران کننده نیتروژن در مقابل برداشت آن توسط محصولات می باشند (۳). شیدرها جزو گیاهان علوفه ای خانواده بقولات (پروانه آسا) هستند که بالغ بر ۳۰۰ گونه نبات می باشند. این گونه ها همگی علفی بوده و دارای برگ های سه تایی و تعداد زیادی گل کوچک هستند و گلبرگ پهن خارجی آنها بزرگتر از سایر گلبرگ هاست. شیدرها می توانند یکساله، دو ساله و یا چند ساله باشند و در نواحی معتدل مرطوب دیده می شوند. شیدرها خوش خوراک بوده و از ارزش غذایی بالایی برای دام ها برخوردار هستند. این گیاهان علاوه بر تولید علوفه در تناوب زراعی نیز نقش مهمی دارند. همچنین هر یک از گونه های شیدر می توانند برای هدف های معینی از جمله تولید علوفه تر و یا علوفه خشک، ایجاد چراگاه و تولید کود سبز کشت شوند (۲).

بنابراین با توجه به اهمیت شیدر در کشاورزی ایران و موقعیت خشک غالب قطب های کشاورزی لازم است که گونه ها و توده های شیدر در شرایط مناسب رطوبتی و همچنین کمبود آب مورد مطالعه قرار گیرند تا بتوان گونه هایی که دارای مقاومت به خشکی مناسب و در عین حال قدرت گره زایی بیشتر هستند، انتخاب گردند. بدین منظور سه گونه شیدر در مرحله جوانه زنی و در شرایط متفاوت رطوبتی مورد آزمایش قرار گرفت تا قدرت جوانه زنی و تحمل هر یک در شرایط تنش کمبود آب مورد بررسی قرار گیرد. در آزمایش دیگری نیز این گونه های شیدر از نظر رشد گیاهچه ای و قدرت گره زایی در شرایط مختلف رطوبتی مورد ارزیابی قرار داده شدند. جوانه زدن در بذور شامل سه مرحله هتروتروفی، انتقال و اتوتروفی می باشد. برای بذور گیاهان خانواده لگومینوز مرحله هتروتروفی از جذب آب آغاز شده و تا هنگام خروج گیاهچه از خاک و شروع فتوسنتز بوسیله لپه ها ادامه می یابد. مرحله انتقال از شروع فتوسنتز بوسیله لپه ها آغاز شده و تا اتمام مواد ذخیره ای لپه ادامه می یابد. مرحله اتوتروفی بعد از اتمام

ذخیره لپه ها آغاز می شود. سرعت طویل شدن ریشه چه و هیپوکوتیل بذور از اهمیت خاصی برخوردار است. زیرا سرعت طویل شدن هیپوکوتیل دوره هتروتروفی بودن را تعیین کرده و رشد سریع ریشه نیز برای استقرار گیاه به خصوص در شرایطی که دوره جوانه زنی کم باشد بسیار مهم است (۴). بذوری که بتوانند در شرایط خشک از درصد جوانه زنی و همچنین سرعت رشد ریشه چه و ساقه چه خوبی برخوردار باشند می توانند استقرار بیشتر و در نتیجه عملکرد بالاتر را باعث شوند. تنش رطوبتی عموماً باعث تاخیر در جوانه زنی، کاهش درصد و سرعت جوانه زنی و کاهش رشد گیاهچه می شود (۷، ۳۰، ۳۲). با کاهش پتانسیل آب سرعت جذب آب بوسیله بذر تحت تاثیر قرار می گیرد ولی برای کاهش درصد جوانه زنی پتانسیل آب باید از حد معینی که برای هر گونه خاص متفاوت است پائین تر رود (۱۷). کاهش درصد جوانه زنی و رشد گیاهچه ها در شرایط تنش آب می تواند ناشی از اثرات مستقیم تجزیه کنندتر مواد آندوسپرم و لپه ها یا انتقال کندتر مواد تجزیه شده به گیاهچه باشد. گالشی در بررسی تاثیر شوری بر رشد و تثبیت نیتروژن در شیدر زیر زمینی نتیجه گرفت که با افزایش شوری، گره زایی و سطح برگ و وزن خشک ریشه گیاه کاهش می یابد (۶). Younis و همکاران در بررسی اثر خشکی ناشی از مانیتول بر روی جوانه زنی و رشد گیاهچه های ۷ گونه یونجه مشاهده نمودند که درصد و سرعت جوانه زنی با افزایش تنش رطوبتی کاهش می یابد. نتایج وی حاکی از وجود تفاوت بین واریته ها و همچنین وجود اثرات متقابل واریته در تنش رطوبتی در مورد جوانه زنی است. رشد گیاهچه ها نیز در نتیجه تنش خشکی کاهش یافت، اگر چه تفاوت بین واریته ها در تنش در این مورد معنی دار نبود (۲۲). نتایج آزمایشات بصیری نیز نشان می دهد که هنگامی که بذور جوانه زده یونجه بطور موقت در معرض خشکی شدید قرار می گیرند، رشد بعدی آنها به دلیل وارد شدن خسارت به بافت های جنین و در نتیجه تاخیر یا اختلال در رشد ساقه و ریشه تحت تاثیر قرار می گیرد (۸). همچنین در نتیجه خشکی موقت خصوصیات رشد ریشه تغییر یافته، و خروج از خاک به دلیل تخلیه انرژی و ذخایر غذایی به تاخیر می افتد. اکثراً مشاهده می گردد که حتی تنش متوسط باعث کاهش رشد می گردد که این عمل بر طول سلول ها در قسمت های حساس به کمبود آب (۲۳)، فشار تورژانس ترجیحاً پتانسیل آب در سلول های در حال رشد اثر گذارده و در نتیجه باعث کاهش میزان محصول خواهد شد (۱۶). یونجه در هنگامی که خاک در حالت ظرفیت زراعی است دارای حداکثر رشد می باشد. با کاهش میزان آب خاک رشد آن کاهش یافته و در تنش های شدید متوقف می شود (۱۲، ۲۱). با کاهش رطوبت خاک تعداد ساقه در گیاه، ارتفاع گیاه، وزن ریشه و قسمت هوایی کاهش می یابد (۱۳، ۹، ۲۴). خشکی باعث کاهش رشد ریشه نیز می گردد. هر چند که میزان تاثیر پذیری آن کمتر از قسمت های هوایی می باشد (۱۲، ۲۱). مطالعات متعدد حاکی از کاهش تعداد غده ها در نتیجه خشکی می باشد. Heichel در بررسی اثر شرایط مختلف رطوبتی روی گیاهچه های یونجه مشاهده نمود که در گیاهچه های سه هفته ای که در شرایط رطوبت کم رشد یافته بودند تعداد غده ها نسبت به گیاهان شاهد ۵۰ تا ۷۰ درصد کمتر می باشد (۱۸). Saito و همکاران در بررسی بوته های لوبیا که به مدت ۷۰ روز تحت رژیم های مختلف رطوبتی (۰/۰۷، ۰/۰۸، ۰/۱ مگا پاسکال) قرار داشتند غده دهی متفاوتی مشاهده گردید. در شرایط مکش ۱ مگا پاسکال خاک تنها غده های کوچک و متفرق روی گیاه قابل

بذرها ابتدا بذر را در داخل یک صافی با آب مقطر شستشو گردید و سپس به مدت ۱۰ ثانیه در اتانول ۹۵٪ و مجدداً به مدت ۳ دقیقه در محلول کلرید جیوه (HgCl₂) ۰/۲٪ قرار داده شدند و پس از این مرحله بذر را ۵ تا ۶ مرتبه با آب مقطر استریل شده شستشو داده تا کلرید جیوه کاملاً از بین برود و شسته شود. در هر پتری دیش ۱۰۰ عدد بذر از هر کدام از گونه های مورد آزمایش قرار داده شد و ۳ تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد و سپس به پتری دیش ها ۷ میلی لیتر از محلول با پتانسیل اسمزی مورد نظر اضافه شده و پس از آن به ژرminatور منتقل شدند و در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داده شدند. شمارش بذور جوانه زده در اولین روز بعد از کاشت تا ۷ روز انجام گرفت و پس از انجام شمارش نهایی تعداد بذرهای جوانه زده در روز هفتم، از هر پتری دیش ۴ نمونه بطور تصادفی انتخاب و طول ریشه چه و ساقه چه با کولیس اندازه گیری شد.

آزمایش دوم: بررسی اثر تنش خشکی بر روی رشد و گره زایی ریشه شبدر

گلدان هایی به ابعاد ۹×۸×۱۰ سانتی متر انتخاب گردید و ابتدا با آب معمولی شستشو داده و پس از خشک کردن بوسیله اتانول ۹۵٪ ضد عفونی و ته گلدان ها نیز توری گذاشته شد. گلدان ها با کوارتز ۲×۲ میلیمتری پر شدند. لازم به ذکر است که توری و کوارتز قبلاً بوسیله آون در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و به مدت یک ساعت ضد عفونی شده بودند. با قرار دادن الگوی کاشت روی گلدان و در عمق ۲ سانتیمتری، در هر گلدان ۳۴ بذر کاشته شد. تیمارهای خشکی عبارت بودند از ۰/۲۵٪، ۰/۵۰٪ و ۰/۷۵٪ ظرفیت زراعی. برای اعمال این تیمارها ابتدا بعد از کاشت، گلدان ها وزن شدند و سپس آبیاری گردیدند و بعد از گذشت ۳ ساعت (جهت خارج شدن آب زهکش) گلدان ها مجدداً توزین شدند که اختلاف حاصل از وزن اولیه و ثانویه همان مقدار آب در حد ظرفیت زراعی بود. گلدان ها هر روز توزین شده و زمانی که رطوبت به ۰/۷۵٪ و ۰/۵۰٪ و ۰/۲۵٪ ظرفیت زراعی (تیمارهای مورد نظر) رسیدند دوباره به ظرفیت زراعی رسانده شدند. گلدان ها بطور یکنواخت آبیاری شدند که این عمل تا ۷ روز ادامه داشت و تا گلدان ها سبز شدند. سپس گلدان ها تنک شده و در هر

تشخیص بود، در حالیکه در مکش ۰/۰۰۷ مگاپاسکال غده دهی و تثبیت ازت به خوبی انجام گردیده بود (۲۵). به نظر Mckee عدم تشکیل غده یا کاهش در تعداد غده می تواند ناشی از کاهش بقاء ریزوبیوم در خاک باشد، البته میزان تاثیر پذیری گونه های مختلف باکتری متفاوت است (۲۲). خشکی می تواند نفوذ ریزوبیوم را به درون تارهای کشنده تحت تاثیر قرار دهد. همچنین در اثر تنش کمبود آب رشد غده هایی که در شرایط مناسب رطوبتی تشکیل آنها آغاز گردیده است، به تاخیر افتاده و از این طریق تعداد غده ها کاهش می یابد (۱۵). از بین رفتن غدد در نتیجه تنش کمبود آب عامل دیگری در کاهش تعداد آنها می باشد (۳۳). Keck و همکاران در مطالعه اثر خشکی و شوری بر روی یونجه مشاهده کردند که وزن و تعداد غده ها بوسیله خشکی تحت تاثیر قرار گرفته ولی شوری بر آنها تاثیر ندارد (۱۹). هر چند گالشی در مطالعه اثر شوری بر روی تثبیت ازت گونه های یونجه در مرحله گیاهچه های کاهش تعداد غدد همراه کاهش وزن خشک را در نتیجه افزایش شوری گزارش کرده است (۵). تنش آب بر روی ساختمان غدد تشکیل شده تاثیر می گذارد و میزان تاثیر بسته به شدت تنش متفاوت است (۲۶، ۲۷). خشکی می تواند هم غدد کروی (۲۷) و هم غدد مریستمیک (۲۸) را تحت تاثیر قرار دهد.

مواد و روش ها

بذور گونه های شبدر شامل *Trifolium michelianum* cv. bolta و *Trifolium subterraneum* cv.york و *Trifolium resupinatum* cv.nitro از موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع تهیه شد. آزمایش ها در اتاقک رشد موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع انجام گرفت. دمای اتاقک رشد ۲۵ درجه سانتی گراد، طول دوره روشنایی و تاریکی هر یک ۱۲ ساعت و رطوبت نسبی ۸۰ درصد تنظیم شده بود.

آزمایش اول: تعیین اثر تنش کمبود آب بر روی جوانه زنی گونه های شبدر

در این آزمایش جوانه زنی بذور سه گونه فوق مورد بررسی قرار گرفت. برای اعمال خشکی از محلول پلی اتیلن گلیکول برای تهیه محلول هایی با پتانسیل های ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵، ۰/۶، ۰/۷، ۰/۸، ۰/۹، ۱، ۱/۱، ۱/۲- مگاپاسکال استفاده گردید. برای ضد عفونی کردن

جدول شماره ۱- مواد مورد استفاده برای ساخت محلول آبیاری هوگلند به میزان ۲۰۰ لیتر

ردیف	نام ماده	مقدار بر حسب گرم
۱	MgSO ₄ . ۷H ₂ O	۴۹/۲۷۵
۲	KH ₂ PO ₄	۳/۴
۳	Trace element	۱۰۰ mil
۴	Fe - EDTA	۴۰۰ mil
۵	K ₂ SO ₄	۵۵/۴۳
۶	CaSO ₄ . ۲H ₂ O	۵۰

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در آزمایش تاثیر PEG بر روی جوانه زنی گونه های شبدر میانگین مربعات صفات مورد بررسی

میانگین مربعات MS					
طول هیپوکوتیل (mm)	طول ریشه چه (mm)	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	درجه آزادی d.f	منابع تغییر S.O.V
۱۰۰۷/۹۰۲**	۳۰۳۵/۴۵۸**	۴۰۶/۶۵۲**	۵۱۹۵/۹۰۶**	۹	پلی اتیلن گلیکول
۵/۲۸۹	۱۷/۷۵۶	۲/۶۹۸	۲۸/۵۶۷	۲۰	اشتباه ۱ (Ea)
۱۷۶/۶۲۳**	۱۰۱۹/۰۳۳**	۸۷/۸۱۰**	۷۱۶/۴۱۱**	۲	گونه (شبدر)
۴۰/۴۷۳**	۲۳۱/۱۳۲**	۱۴/۷۶۷**	۱۴۳/۴۳۶**	۱۸	پلی اتیلن گلیکول *گونه
۵/۵۰۶	۴/۸۰۶	۲/۶۲۲	۳۸/۴۶۷	۴۰	اشتباه ۲ (Eb)
۲۱/۲۷	۱۱/۹۴	۲۱/۱۶	۲۲/۱۹	-	ضریب تغییرات (%CV)

ns, * و ** : بترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪
و ۱٪

جدول ۳- مقایسه میانگین کلیه صفات مورد مطالعه بین گونه های مختلف شبدر در آزمایش تاثیر PEG بر روی جوانه زنی گونه های شبدر

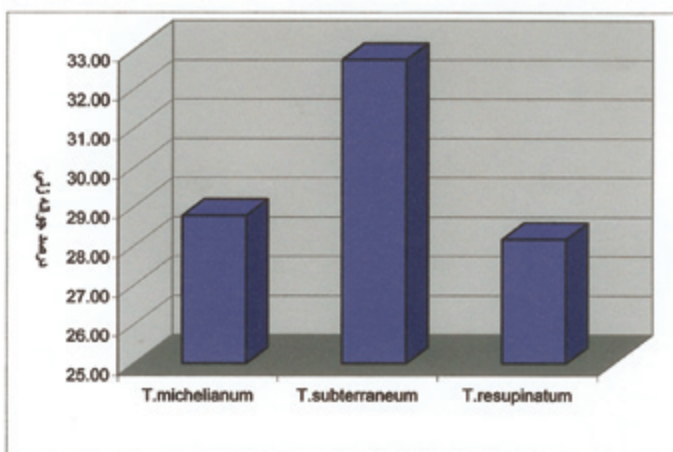
صفت گونه	سرعت جوانه زنی	طول هیپوکوتیل (mm)	طول ریشه چه (mm)	درصد جوانه زنی
<i>Trifolium michlianum</i>	۵/۹۷۳ C	۹/۱۳۳ B	۱۴/۰۷ C	۲۲/۹۷ C
<i>Trifolium subterraneum</i>	۹/۳۹۳ A	۱۳/۷۷ A	۲۵/۰۰ A	۳۲/۷۳ A
<i>Trifolium resupinatum</i>	۷/۵۹۰ B	۱۰/۲۰ B	۱۶/۰۳ B	۲۸/۱۷ B

* : حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار بین میانگین ها در سطح احتمال ۱٪ در آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد.

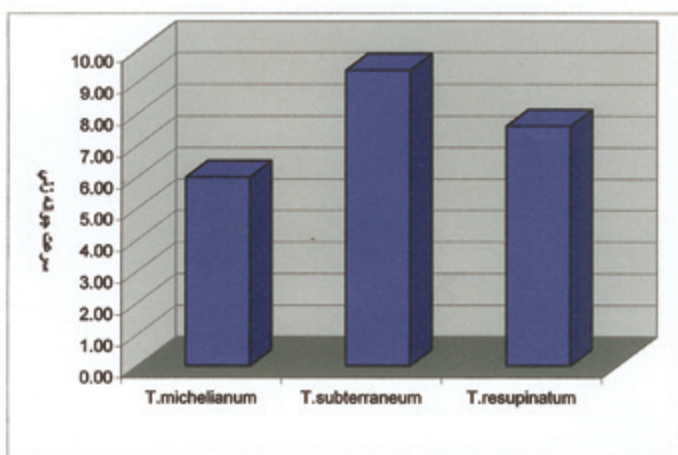
جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه بین پتانسیل های مختلف پلی اتیلن گلیکول

صفت پتانسیل PEG	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	طول هیپوکوتیل (mm)	طول ریشه چه (mm)
شاهد (آب مقطر)	۶۴/۸۹ A	۱۷/۹۶ A	۲۸ A	۴۸/۶۷ A
۱-۰-۱ مگاپاسکال	۵۲/۴۴ B	۱۴/۷۰ B	۲۵ B	۴۴/۵۶ B
۰-۲	۴۴/۸۹ C	۱۲ C	۱۹/۸۹ C	۳۳/۲۲ C
۰-۳	۳۸/۷۸ D	۱۱/۲۸ CD	۱۳/۸۹ D	۱۹ D
۰-۴	۳۶/۱۱ D	۱۰/۰۷ DE	۱۱/۱۱ E	۱۷/۲۲ DE
۰-۵	۳۴ D	۸/۸۵۶ E	۹/۸۸۹ E	۱۶/۵۶ E
۰-۶	۸/۴۴۴ E	۱/۶۶۷ F	۲/۵۵۶ F	۴/۴۴۴ F
۰-۷	۰/۰۰ F	۰/۰۰ F	۰/۰۰ G	۰/۰۰ G

* : در هر ستون، میانگین های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت آماری معنی داری را در آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان نمی دهند.



نمودار ۱- مقایسه میانگین درصد جوانه زنی گونه های شبدر



نمودار ۲- مقایسه میانگین سرعت جوانه زنی گونه های شبدر

گردید و نتایج زیر حاصل گردید:

از نظر صفت درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی، تیمارهای پتانسیل پلی اتیلن گلیکول به ۶ گروه تقسیم بندی شدند که تیمار شاهد بیشترین درصد و سرعت جوانه زنی و تیمار $PEG = -0/7$ کمترین درصد و سرعت جوانه زنی را به خود اختصاص دادند از نظر صفات طول ریشه و هیپوکوتیل تیمارهای PEG به ۷ گروه مجزا تقسیم شدند که بیشترین و کمترین طول ریشه چه و هیپوکوتیل به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و $-0/7$ می باشد (جدول ۴).

برای بررسی رابطه بین صفات مورد اندازه گیری در آزمایش، ماتریس ضرائب همبستگی ساده بین صفات محاسبه گردید. ماتریس ضرائب همبستگی ساده نشان داد که بین صفات درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی و همچنین بین

کدام ۲۵ بوته نگه داشته شد و عمل تلقیح ریزوبیوم ها انجام و به گلدان ها محلول هوگلدن که طبق جدول شماره ۱ تهیه شده بود، اضافه شد و پس از آن تیمارهای خشکی اعمال گردید. سی روز بعد از عمل تلقیح، گیاهان از گلدان خارج شده و وزن خشک اندام هوایی و ریشه چه و همچنین طول ریشه چه و ساقه چه و تعداد گره ایجاد شده بر روی ریشه چه، اندازه گیری شد. در مورد کلیه آزمایشات انجام شده، از کرت های خرد شده در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی استفاده شد که در آزمایش اول، ۱۳ تیمار مختلف پتانسیل اسمزی و در آزمایش دوم ۳ تیمار تنش خشکی، به عنوان فاکتور اصلی و ۳ گونه شبدر به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد و هر گلدان و یا هر پتری دیش، یک پلات یا یک کرت را تشکیل می داد. لازم به ذکر است که در آزمایش اول در تیمارهای -1 ، $-1/1$ ، $-1/2$ مگاپاسکال درصد جوانه زنی تمام گونه ها صفر گردید لذا از آوردن آنها در محاسبات صرف نظر گردید. پس از برداشت نمونه ها و اندازه گیری های مربوطه، آنالیز داده ها و رسم نمودارها به ترتیب به کمک نرم افزارهای MSTATC و Excel و مقایسه میانگین ها نیز به روش دانکن انجام شد.

نتایج

تأثیر PEG (پلی اتیلن گلیکول) بر روی

جوانه زنی گونه های شبدر

پس از انجام آزمون نرمال بودن اشتباهات آزمایشی داده ها و آزمون چولگی (Skewness test) تجزیه واریانس داده ها برای کلیه صفات مورد بررسی انجام گردید. نتایج حاصل از این بررسی نشان می دهد که پتانسیل های مختلف پلی اتیلن گلیکول اثر بسیار معنی داری بر روی درصد و سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و هیپوکوتیل دارد و اثر گونه نیز بر روی کلیه صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار گردید. اثر متقابل بین PEG و گونه های شبدر هم در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است (جدول ۲). نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ بترتیب مقایسه میانگین های درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و طول هیپوکوتیل گونه های شبدر را نشان می دهند.

مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ برای کلیه صفات بین گونه های مختلف شبدر انجام گردید. از نظر سرعت و درصد جوانه زنی و طول ریشه چه گونه ها به سه گروه مجزا تقسیم شدند و گونه *Trifolium subterraneum* بیشترین سرعت و درصد جوانه زنی و طول ریشه چه و گونه *Trifolium michelianum* کمترین سرعت و درصد جوانه زنی و طول ریشه چه را دارند و از نظر صفت طول هیپوکوتیل نیز گونه ها به ۲ گروه تقسیم شدند که گونه *Trifolium subterraneum* بیشترین و گونه *Trifolium michelianum* کمترین طول هیپوکوتیل را داشتند (جدول ۳).

مقایسه میانگین ها در سطح احتمال ۱ درصد بین پتانسیل های مختلف پلی اتیلن گلیکول در کلیه صفات مورد مطالعه محاسبه

ضریب تغییرات اشتباه آزمایشی برای کلیه صفات محاسبه گردید و از حد پایینی بر خوردار بود بجز صفت تعداد گره بر روی ریشه که با توجه به CV بالا از تبدیل داده جذری (Square data transformation) استفاده گردید و ابتدا داده ها نرمال و سپس تجزیه واریانس گردیدند.

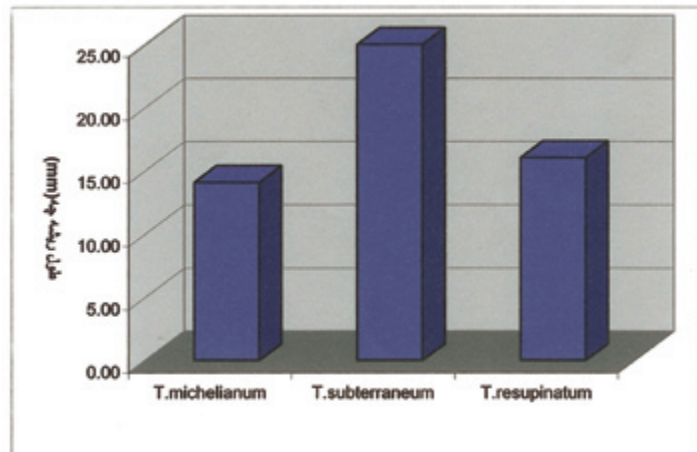
مقایسه میانگین های گونه های مختلف شبدر از نظر صفات وزن خشک ریشه، ساقه، طول هیپوکوتیل و ریشه چه با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد که گونه *Trifolium subterraneum* بیشترین میانگین از نظر صفات وزن خشک ریشه، ساقه، طول هیپوکوتیل و ریشه چه را دارا می باشد. از نظر صفات وزن خشک ساقه، ریشه و طول هیپوکوتیل ارقام در ۲ گروه و از نظر طول ریشه چه ارقام در ۳ گروه مجزا قرار گرفتند مقایسه میانگین به روش دانکن برتری رقم *Trifolium subterraneum* را نسبت به ارقام دیگر نشان داد (جدول ۸).

مقایسه میانگین در سطح احتمال ۱ درصد بین تعداد گره، وزن خشک ریشه و ساقه، طول ریشه چه و هیپوکوتیل در سه ظرفیت آبیاری نشان داد که در تمام موارد فوق بیشترین آنها مربوط به تیمار ۱d و کمترین آنها مربوط به تیمار ۳d می باشد (جدول ۹).

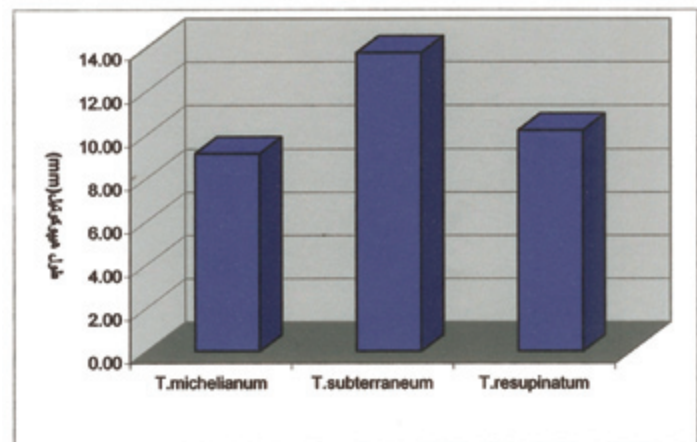
برای تعیین رابطه همبستگی بین صفات، ماتریس ضرائب همبستگی ساده بین کلیه صفات محاسبه گردید این ماتریس نشان داد که بین صفات وزن خشک ریشه با طول ریشه چه و وزن خشک ساقه با طول ریشه چه و طول هیپوکوتیل و طول ریشه چه در سطح احتمال ۵ درصد همبستگی معنی دار گردید همچنین بین صفات وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه در سطح احتمال ۱ درصد همبستگی معنی دار مشاهده شد و برای بقیه صفات همبستگی غیر معنی دار بود (جدول ۱۰).

بحث

نتایج نشان داد که گونه *Trifolium subterraneum* بیشترین سرعت و درصد جوانه زنی، طول ریشه چه و طول هیپوکوتیل را دارا می باشد با توجه به اینکه جوانه زدن در بدور شامل سه مرحله هتروتروفی، انتقال و اتوتروفی می باشد (۴) که برای بدور گیاهان خانواده لگومینوز مرحله هتروتروفی از جذب آب آغاز شده و تا هنگام خروج گیاهچه از خاک و شروع فتوسنتز بوسیله لپه ها ادامه می یابد. مرحله انتقال از شروع فتوسنتز بوسیله لپه ها آغاز شده و تا اتمام مواد ذخیره ای لپه ادامه می یابد. مرحله اتوتروفی بعد از اتمام ذخیره لپه ها آغاز می شود. سرعت طویل شدن ریشه چه و هیپوکوتیل بدور از اهمیت خاصی برخوردار است. زیرا سرعت طویل شدن هیپوکوتیل دوره هتروتروفی بودن را تعیین کرده و رشد سریع ریشه نیز برای استقرار گیاه بخصوص در شرایطی که دوره جوانه زنی کم باشد بسیار مهم است (۱۳). در نتیجه بدوری که بتواند در شرایط خشک از درصد جوانه زنی و همچنین سرعت رشد ریشه چه و ساقه چه خوبی برخوردار باشند می توانند استقرار بیشتر و در نتیجه عملکرد بالاتر را باعث شوند. لذا به همین دلایل است که گونه *Trifolium subterraneum* دارای مقاومت به خشکی بیشتری بوده و بیشترین



نمودار ۳- مقایسه میانگین طول ریشه چه گونه های شبدر



نمودار ۴- مقایسه میانگین طول هیپوکوتیل گونه های شبدر

صفات طول ریشه و طول هیپوکوتیل همبستگی مثبت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد (۶).

ب- بررسی اثر خشکی بر روی رشد و گره زایی ریشه ارقام شبدر

پس از انجام آزمون نرمال بودن اشتباهات آزمایشی داده ها و آزمون چولگی (Skewness test) تجزیه واریانس داده ها برای کلیه صفات به روش کرت های خرد شده در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. اثر آبیاری بر تعداد گره ریشه و طول هیپوکوتیل و ریشه چه در سطح احتمال ۱٪ و بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۵٪ معنی دار گردید. آبیاری اثر معنی داری بر روی صفت وزن خشک ساقه نشان نداد. همچنین بین ارقام شبدر از نظر صفات وزن خشک ریشه و ساقه و طول هیپوکوتیل و ریشه چه اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ ولی برای صفت تعداد گره بر روی ریشه بین ارقام هیچ تفاوت معنی داری ملاحظه نشد. اثر متقابل بین رقم و آبیاری بر صفت وزن خشک ریشه معنی دار و برای بقیه صفات غیر معنی دار بود. (جدول ۷).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل گونه PEG× بر روی صفات مورد مطالعه در آزمایش تاثیر PEG بر روی جوانه زنی گونه های شبدر

گروه × گونه PEG	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	طول ریشه (mm)	طول هیپوکوتیل (mm)
گونه ۱ × شاهد	۵۷/۳۳ BC	۱۲/۱۳ ACDE	۳۵/۰۰ DE	۲۲/۶۷ BC
گونه ۲ × شاهد	۷۳/۳۳ A	۲۱/۸۷ A	۷۳/۰۰ A	۳۶/۳۳ A
گونه ۳ × شاهد	۶۴/۰۰ AB	۱۹/۸۷ A	۳۸/۰۰ D	۲۵/۰۰ B
گونه ۱ × ۰/۱	۴۵/۳۳ DEF	۱۱/۸۰ CDEF	۳۲/۳۳ E	۱۹/۶۷ CD
گونه ۲ × ۰/۱	۶۴/۰۰ AB	۱۹/۲۳ A	۶۶/۰۰ B	۳۵/۰۰ A
گونه ۳ × ۰/۱	۴۸/۰۰ CDE	۱۳/۰۷ BCD	۳۵/۳۳ DE	۲۰/۳۳ CD
گونه ۱ × ۰/۲	۴۲/۶۷ DEFG	۱۰/۹۰ CDEFG	۲۵/۳۳ FG	۱۷/۶۷ D
گونه ۲ × ۰/۲	۵۰/۶۷ CD	۱۴/۹۷ B	۴۷/۳۳ C	۲۵/۰۰ B
گونه ۳ × ۰/۲	۴۱/۳۳ DEFGH	۱۰/۱۳ DEFGH	۲۷/۰۰ F	۱۷/۰۰ D
گونه ۱ × ۰/۳	۳۰/۶۷ HIJ	۸/۹۳۳ FGH	۱۷/۶۷ IJ	۱۲/۳۳ E
گونه ۲ × ۰/۳	۴۸/۶۷ CDE	۱۳/۶۷ BC	۲۲/۲۳ GH	۱۷/۳۳ D
گونه ۳ × ۰/۳	۳۷/۰۰ EFGHI	۱۱/۲۳ CDEFG	۱۷/۰۰ IJK	۱۲/۰۰ EF
گونه ۱ × ۰/۴	۲۹/۰۰ IJ	۸/۳۳۳ GH	۱۵/۳۳ JK	۱۰/۰۰ EF
گونه ۲ × ۰/۴	۴۵/۳۳ DEF	۱۲/۶۷ BCD	۲۰/۶۷ HI	۱۲/۶۷ E
گونه ۳ × ۰/۴	۳۴/۰۰ FGHIJ	۹/۲۰۰ EFGH	۱۵/۶۷ JK	۱۰/۶۷ EF
گونه ۱ × ۰/۵	۲۴/۶۷ J	۷/۶۳۳ HI	۱۵/۰۰ JK	۹/۰۰ EF
گونه ۲ × ۰/۵	۴۵/۳۳ DEF	۱۱/۵۳ CDEF	۲۰/۶۷ HI	۱۱/۳۳ EF
گونه ۳ × ۰/۵	۳۲/۰۰ GHIJ	۷/۴۰۰ HI	۱۴/۰۰ JK	۹/۳۳ EF
گونه ۱ × ۰/۶	۰/۰۰۰ K	۰/۰۰۰ J	۰/۰۰۰ L	۰/۰۰۰ G
گونه ۲ × ۰/۶	۰/۰۰۰ K	۰/۰۰۰ J	۰/۰۰۰ L	۰/۰۰۰ G
گونه ۳ × ۰/۶	۲۵/۳۳ J	۵/۰۰۰ I	۱۳/۳۳ K	۷/۶۶۷ F
گونه ۱ × ۰/۷	۰/۰۰۰ K	۰/۰۰۰ J	۰/۰۰۰ L	۰/۰۰۰ G
گونه ۲ × ۰/۷	۰/۰۰۰ K	۰/۰۰۰ J	۰/۰۰۰ L	۰/۰۰۰ G
گونه ۳ × ۰/۷	۰/۰۰۰ K	۰/۰۰۰ J	۰/۰۰۰ L	۰/۰۰۰ G

گونه ۱ = *Trifolium michelianum*

گونه ۲ = *Trifolium subterraneum*

گونه ۳ = *Trifolium resupinatum*

× در هر ستون، میانگین های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت آماری معنی داری را در آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان نمی دهند.

جدول ۶- ماتریس ضرائب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه در آزمایش تاثیر PEG بر روی جوانه زنی گونه های شبدر

طول هیپوکوتیل	طول ریشه چه	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	صفت
۰/۹۲۱۶ ns	۰/۸۹۴۰ ns	* ۰/۹۷۹۵	۱	درصد جوانه زنی
۰/۹۲۶۰ ns	۰/۹۰۸۷ ns	۱		سرعت جوانه زنی
* ۰/۹۷۱۶	۱			طول ریشه
۱				طول هیپوکوتیل

ns و * : بترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪

جدول ۷- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در آزمایش بررسی اثر خشکی بر روی رشد و گره زایی ریشه شبدر.

رقم	صفت	طول ریشه چه (mm)	طول هیپوکوتیل (mm)	وزن خشک ساقه (mg)	وزن خشک ریشه (mg)	تعداد گره ریشه
	<i>T. michelianum</i>	۱۵/۴۴ C	۴۰/۷۸ B	۶/۴۴۴ B	۰/۴۵۵۶ B	۰/۷۷۷۸ A
	<i>T. subterraneum</i>	۴۲/۵۶ A	۵۴/۰۰ A	۴۴/۴۴ A	۵/۵۵۶ A	۱/۴۴۴ A
	<i>T. resupinatum</i>	۲۱/۱۱ B	۴۱/۰۰ B	۴/۲۲۲ B	۰/۳۴۴۴ B	۱/۳۳۳ A

C, B, A : بترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

جدول ۸- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه برای ارقام مختلف شبدر در آزمایش بررسی اثر خشکی بر روی رشد و گره زایی ریشه شبدر

میانگین مربعات صفات مورد مطالعه						درجه آزادی df	منبع تغییر S.O.V
طول ریشه چه mm	طول هیپوکوتیل mm	وزن خشک ساقه mg	وزن خشک ریشه mg	تعداد گره بر روی ریشه			
				اصولی	تبدیل جذر		
۲۵۶/۹۲۶ **	۱۷۱/۳۷۰ **	۳۷۰/۸۳ ns	۱/۸۵۰ *	۲۸/۲۵۹ **	۲/۹۶۲ *	۲	آبیاری
۷/۹۶۳	۱۲/۲۹۶	۳۰/۷۰۴	۰/۲۱۰	۰/۷۰۴	۰/۰۵۶	۶	اشتباه (Ea)
۱۸۴۰/۴۸۱ **	۵۱۵/۸۱۵ **	۴۶/۱۴۸ **	۷۹/۷۶۷ **	۱/۱۴۸ ns	۰/۱۲۰ ns	۲	رقم (شبدر)
۴/۸۷۰ ns	۴/۰۳۷ ns	۴۳/۱۴۸ ns	۰/۹۳۸ *	۰/۹۸۱ ns	۰/۰۹۸ ns	۴	آبیاری × رقم
۹/۱۸۵	۱۱/۵۷۴	۱۹/۸۷۰	۰/۱۸۳	۰/۷۵۹	۰/۰۷۴	۱۲	اشتباه ۲ (Eb)
۱۱/۴۹	۷/۵۲	۲۴/۲۷	۲۰/۱۸	۷۳/۵۲	۲۴/۹۵	-	ضریب تغییرات (CV)

* : در هر ستون، میانگین های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت آماری معنی داری را در آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان نمی دهند.

تنش آب متابولیسم پروتئین و اسیدهای ریبونوکلیک را تحت تاثیر قرار داده و از این طریق رشد گیاهچه ها کاهش می یابد (۳۱).

Younis و همکاران نیز در بررسی اثر خشکی ناشی از مانیتول بر روی جوانه زنی و رشد گیاهچه های ۷ رقم یونجه مشاهده نمود که درصد و سرعت جوانه زنی با افزایش تنش رطوبتی کاهش می یابد و همچنین رشد گیاهچه ها نیز کاهش یافت (۳۲). صدرآبادی در بررسی اثر تنش کمبود آب ناشی از پلی اتیلن گلیکول (PEG) بر روی جوانه زنی و رشد گیاهچه های ۷ رقم یونجه

عملکرد را نسبت به گونه های دیگر دارد. همچنین با توجه به نتایج حاصله در مقایسه میانگین صفات مورد بررسی بین تیمارهای مختلف پلی اتیلن گلیکول (جدول ۴) مشاهده می گردد که با کاهش پتانسیل آب، درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی و همچنین طول ریشه چه و هیپوکوتیل نیز کاهش می یابد. کاهش درصد جوانه زنی و رشد گیاهچه ها در شرایط تنش آب می تواند ناشی از اثرات مستقیم تجزیه کندتر مواد آندو سپرم لپه ها با انتقال کندتر مواد تجزیه شده به گیاهچه باشد در ذرت نیز دیده شده است که

جدول ۹- مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده بین سه ظرفیت آبیاری در آزمایش بررسی اثر خشکی بر روی رشد و گره زایی ریشه شبدر

صفه	تعداد گره ریشه	وزن خشک ریشه (mg) مقایسه در سطح ۵٪	وزن خشک ساقه (mg)	طول هیپوکوتیل (mm)	طول ریشه چه (mm)
آبیاری ۱ ^d	۳/۳ ^A	۲/۵۱ ^A	۲۳/۲۲	۴۹/۸۹ ^A	۳۱/۸ ^A
آبیاری ۳ ^d	۱/۳۳ ^B	۲/۲۲ ^{AB}	۱۷/۷۷	۴۴/۶۷ ^{AB}	۲۶ ^B
آبیاری ۳ ^d	۰/۰۰ ^B	۱/۶۲ ^B	۱۵/۶۶	۴۱/۲۲ ^B	۲۱/۲۲ ^B

*: در هر ستون، میانگین های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت آماری معنی داری را در آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ نشان نمی دهند.

جدول ۱۰- ماتریس ضرائب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه در آزمایش بررسی اثر خشکی بر روی رشد و گره زایی ریشه شبدر

صفات	تعداد گره بر روی ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه	طول هیپوکوتیل	طول ریشه چه
تعداد گره بر روی ریشه	۱	۰/۲۲۲۳ ns	۰/۱۸۶۳ ns	۰/۴۱۷۲ ns	۰/۴۱۲۹ ns
وزن خشک ریشه		۱	۰/۹۷۷۷**	۰/۸۷۷۴ ns	۰/۹۲۱۲*
وزن خشک ساقه			۱	۰/۸۷۳۶ ns	۰/۸۹۶۴*
طول هیپوکوتیل				۱	۰/۹۰۳۶*
طول ریشه چه					۱

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

می دهد (۱).

Buttery و همکاران در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که در اثر تنش خشکی تعداد روزنه ها کاهش یافته و این موضوع نیز بر میزان سنتز ماده خشک در اندام های هوایی تاثیر می گذارد (۱۰).

منابع مورد استفاده

- ۱- پهلوان پور فرد جهرمی، ع. ۱۳۷۶. اثرات فیزیولوژیکی شرایط کم آبی (تنش خشکی) بر یونجه های یکساله، پایان نامه فوق لیسانس. دانشکده علوم دانشگاه شیراز.
- ۲- جوادی، ح. ۱۳۷۸؛ بررسی قدرت بذر و گیاهچه در سه گونه شبدر. مجله پژوهش و سازندگی. جلد ۱. شماره ۴۱، ۴۰، ۴۲. صفحات ۱۴-۱۷.
- ۳- رحمانی، ا. ۱۳۷۹؛ فن آوری تثبیت همزیست نیتروژن (راهکارها و کاربردها). انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. ۱۲۹ صفحه.
- ۴- صدرآبادی، ر. ۱۳۶۸؛ اثر تنش کمبود آب بر رشد و تثبیت ازت در تعدادی گونه های و توده های یونجه. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.
- ۵- گالشی علی آبادی، س. ا. ۱۳۶۷؛ بررسی کارآئی تثبیت ازت باکتری ریزوبیوم ملیوتی در شرایط شور. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی

مشاهده نمود که افزایش پتانسیل آب باعث کاهش صفات درصد جوانه زنی و طول ریشه چه و هیپوکوتیل می گردد (۴). پهلوان پور فرد جهرمی و Younis و همکاران نیز در بررسی ارقام مختلف یونجه مشاهده نمودند که با کاهش پتانسیل آب طول ساقه چه و وزن خشک آن کاهش می یابد (۱، ۳۲). تنش خشکی باعث کاهش تعداد غدد روی ریشه گونه های شبدر گردید علت کاهش تعداد غدد و یا عدم تشکیل آن را می توان ناشی از کم شدن رشد برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز دانست. به نظر Dejong و همکاران تنش خشکی باعث کاهش فتوسنتز و در نتیجه ATP که برای تثبیت ازت ضروری است می گردد (۱۴) و همچنین نسبت کربن به ازت عامل تعیین کننده ای در تشکیل غده تثبیت ازت می باشد (۴)، Spernt بیان می دارد که تنش کمبود آب باعث عدم تکثیر باکتری ریزوبیوم می گردد (۲۹) و به نظر Sprent و Gallachey تنش خشکی سبب کاهش نفوذ ریزوبیوم بدون تارهای کشنده می شود (۱۵) بنا به دلایل فوق تنش کمبود آب می تواند سبب عدم تشکیل غده بر روی ریشه گونه های شبدر گردد. صدر آبادی (۱۳۶۸) در بررسی ارقام یونجه نتیجه گرفت که تنش خشکی باعث کاهش تعداد غدد بر روی ریشه یونجه می گردد (۴). Castrillo و Calcagno نشان دادند که تنش خشکی باعث تاثیر بر فعالیت آنزیم ریبولوزی فسفات کربوکسیلاز (= Rubisco = biphosphate carboxylase - ۵، Ribulose) و میزان سنتز کلروفیل و پروتئین را در دو رقم زراعی گوجه فرنگی کاهش

- 20-Kramer,P.J.1983.water relation of plants.Academic press.Inc.489pp.
- 21- Lucey, R.F., and M. B. Tesar. 1965; Ferequency and rate of irrigation as factors in factors in forage growth absorption.Agron.J.75:519-523.
- 22-McKee,G.W.1960; Some effects of liming fertilization and soil moisture on seedling growth and nodulation in birds foot trifoli.Agron.J.52:237-240.
- 23-Munnas,R.and R.Weir.1981; Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongation and expanded zones of wheat leaves during moderate water dificits at two light levels.Aust.J.Plant Physiol,8:93-105.
- 24- Perry, J.R.L. J. and K.L.Larson .1974; Influence of drought on tillering and internode number and length in alfalfa. Crop sci. 14:693-696.
- 25- Saito, S. M. T., Nazareth, M., Montanherio,S., victoria, R.L., and K.Reichardt.1984.The effects of N fertilizer and soil moisture on the nodulation and growth of *Phaseolus vulgaris*. J.Agric.sci.Camb.103:87-93.
- 26-Sprent,J.L.1971; a.Effects of water stress on nitrogen fixation in root nodules.Plant physiol.Special volum.225-228.
- 27-Sprent,J.L.1971; b.The effects of water stress on nitrogen fixing root nodules.L.effects on the physiology of detached Soybean nodules.New phytol.70:9-17.
- 28-Sprent,J.L.1972;The effects of water stress on nitrogen fixing root nodules.New phytol. 71:443-450.
- 29-Spernt,J.L.1976; Water deficits and nitrogen-fixing root nodules.In water deficit and plant growth(T.T.Kozlowski.ed)vol.I V.pp.291-315.Academic press.London.Newyork.
- 30-Spring field,H.W.1966; Germination of fourwing salt bush seed at different levels of moisture stress.Agron.J.58:149-150.
- 31-Weisz, P.R., Denison, R.F.,and T.R.Sinclair.1985; Response to drought stress of nitrogen fixation(acetylen reduction)rates by field grown soybean.Plant physiol.78:525-530.
- 32-Younis, M.A.,Stickler, F.C.,and E.L.Sorensen.1963; Reactions of seven alfalfa varieties under simulated mositure stress.Plant Physiol.37:565-571.
- 33-Zablotowicz, R.M., Focht, D.D., and G.H. Cannell .1981; Nodulation and N fixation of field grown California cowpea as influenced by well-Irrigated anddrought conditions. Agron. J. 75:9-12.
- دانشگاه صنعتی اصفهان.
۶ - گالشی، س.ا.ح.حیدری شریف آباد، ز.ع.طهماسبی و س.ع.مدرس ثانوی. ۱۳۷۹؛ تاثیر شوری بر رشد و تثبیت نیتروژن در شبدر زیر زمینی (*Trifolium subteranium*). مجله پژوهش و سازندگی. جلد ۱. شماره ۴۶. صفحات ۴۸-۵۱.
- 7-Allen,S.G.,A.K.Dobrenz, M.H.Schonhorst.,and J.E.Stoner.1985. Heretability of NaCl tolerance in germination of alfalfa seed.Agron.J.77:99-101.
- 8-Bassiri, M. .1979; Drought tolerance of seedling of crested wheat grass,Russian wildrye,alfalfa,and cicer Milkvetch.PH.D Thises.Colorado State University.Fortcollins,Colorado.
- 9-Brown,P.W.,and C.B.Tanner.1983.Alfalfa stem and leaf growth during water stress. Agron.J.75:799-805
- 10-ButteryB.R.,C.S.Tan,R.L.Buzzell,J.D.Gaynor,and D.C.Mactavish.1993; Stomatal numbers of soybean and response to water stress.plant and soil.149:283-288.
- 11- Castrillo, M., and A.M.Calcagro. 1989; Effects of water stress and rewatering on ribulosa-1,5-biphosphate carboxylase activity,chlorophyll and protein contents in two cultivars of tomato.J.Hortic.sci.64:717-724.
- 12-Christian,K.R.1977; Effects of environment on the growth of alfalfa.Adv.Agron.29:183-219.
- 13-Cowett,E.R.,and M.A.Sprague.1962; Factors affecting tillering in Alfalfa.Agron.J.54:294-297.
- 14-Dejong, T.M.,and D.A.Phillips.1982; water stress effects on nitrogen assimilation and growth of *Trifolium subterraneum* L.using dinitrogen or amoniumnitrate.plant.physiol.69:416-420.
- 15- Gallacher, A.E.,and J.I.Sprent.1978; the effect different water regimes on growth and nodule development of green house-grown *Vicia faba*.J.Exp.Bot.29:413-423.
- 16-Grimes,D.W.,and P.L.wiley.1992; Alfalfa yield and plant water variabl Irrigation.crop sci.32:6,1381-1387
- 17-Hadas,A.,and D.Russo.1974; water uptake by seeds as effected by water stress, cappillary conductivity,and seed soil water contact. I.Experimental study.Agron.J.66:643-647.
- 18-Heichel,G.H.1977; Response of nodulation and growth of *Medicago sativa* to nitrogen and water regime.plant physiol.suppl.59:128.
- 19-Keck,T.J.,Wagenet,J.,campbell,W.F.,and R.E.knighton.1984. Effects of water and salt stress on growth and acetylen reduction in alfalfa.soil.sci.soc.Am.J.48:1310-1316.

