اثر تنش خشکی بر خصوصیات بیوشیمیایی ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام مختلف یونجه (*Medicago Sativa* L.)

۱- مالک مقصودی، دانشجوی دکتری زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲- جمشید رزمجو، استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
krazmjoo@cc.iut.ac.ir
۳- مهدی قیصری، استادیار گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۲۵
پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۲۵

چکیده

یونجه (*Medicago sativa* L.) مهم‌ترین گیاه علوفه‌ای دنیاست که به طور گسترده در بیشتر مناطق اقلیمی بویژه نواحی خشک و نیمه‌خشک مورد کشت و کار قرار دارد. این گیاه از مکانیسم‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مختلفی درمواجه با تنش‌های محیطی بویژه تنش خشکی برخوردار است. هدف از این پژوهش، تعیین نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در مقاومت به خشکی گیاهچه‌های یونجه در شرایط آزمایشگاهی بود. بدین منظور ده رقم یونجه شامل ارقام اصفهانی، همدانی، یزدی، اردوبادی، قره یونجه، بمی، نیکشهری، قمی، بغدادی و کودی و شش سطح پتانسیل آب شامل صفر، ۰/۲-، ۰/۴-، ۰/۶-، ۰/۸- و ۱- مگاپاسکال ایجاد شده با ماده شیمیایی پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید ریشه‌چه و ساقه‌چه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام یونجه مورد ارزیابی قرار گرفتند. تنش خشکی موجبافزایش محتوای پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌های یونجه گردید. بر اساس نتایج، می توان اظهار داشت که ارقام مقاوم به خشکی یونجه از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فعال‌تری برخوردارند.همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی در انتخاب ارقام مقاوم به خشکی در یونجه مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: یونجه؛ تنش خشکی؛ریشه‌چه؛ ساقه‌چه؛ آنتی‌اکسیدان؛مالون دی‌آلدهید: پراکسید هیدروژن.

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل غیر زیستی محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان در نقاط مختلف کره زمین بویژه در مناطق خشک و نیمه خشک است [۲۷]. تنش خشکی از طریق تاثیر بر فرآیندهای حیاتی گیاه مانند جوانه‌زنی و سبز شدن، استقرار بوته، فتوسنتز، جذب و متابولیسم عناصر غذایی و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی موجب کاهش تولیدات کشاورزی می‌شود [۲۵]. از این رو شناسایی و تعیین مکانیسم‌های تحمل گیاهان به تنش خشکی یکی از مهمترین موضوعات مورد توجه پژوهشگران علوم گیاهی است [۷]. یکی از پیامدهای قرارگیری گیاهان در معرض تنش خشکی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن و به دنبال آن وقوع تنش اکسیداتیو است که تاثیر مخربی بر متابولیسم و ساختارهای سلولی دارد [۴۳]. در طی فرآیند از دست دادن آب، گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل، یون‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن در سلول‌ها و بافت‌های گیاهی افزایش یافته که نتیجه آن آسیب به غشاءهای سلولی و اندامک‌ها، اکسیداسیون پروتئین‌ها، بازدارندگی آنزیم‌ها و تخریب اسیدهای نوکلئیک است [۱۶، ۲۴، ۳۳ و ۴۰]. پراکسید هیدروژن یکی از گونه‌های فعال اکسیژن است که توانمندی بالایی برای آسیب رسانی به سلول‌ها و فرآیندهای حیاتی گیاه دارد [۷] و تعیین محتوای آن در اندام‌های مختلف گیاهان در معرض تنش خشکی از جمله روش‌های ارزیابی توان وقوع آسیب در گیاهان مختلف است [۱]. از بارزترین اثر مخرب گونه‌های فعال اکسیژن، آسیب به غشاءهای سلولی است که تحت عنوان

پراکسیداسیون چربی‌ها شناخته می‌شود [۴۳]. در این فرآیند گونه‌های فعال اکسیژن اقدام به دریافت الکترون از چربی‌های غشاءهای سلولی نموده و بدین شکل به آن‌ها آسیب می‌رسانند [۴۱]. بر اثر وقوع پراکسیداسیون چربی‌ها، ماده‌ای به نام مالون دی‌آلدهید از تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع تولید می‌شود [۳]. پایداری غشاءهای سلولی در مواجه با تنش‌های محیطی بویژه خشکی به طور گسترده‌ای جهت تعیین مقاومت به تنش مورد استفاده قرار گرفته [۹] و در بیشتر موارد محتوای کمتر مالون دی‌آلدهید با تحمل به تنش خشکی رابطه داشته است [۳، ۱۷ و ۴۳]. گیاهان از مکانیسم‌های مختلفی برای مقاومت در برابر تنش اکسیداتیو برخوردارند که شامل سیستم دفاع آنزیمی و غیر آنزیمی هستند [۴]. در واقع، مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن از اولین پاسخ‌های دفاعی گیاه در برابر تنش خشکی است که به عنوان پیام رسان ثانویه برای فعال سازی دیگر مکانیسم‌های دفاعی گیاه عمل می کند [۱]. سیستم دفاع آنزیمی علیه گونه‌های فعال اکسیژن شامل گروهی از آنزیم‌هاست که توانایی جذب و خنثی سازی گونه‌های فعال اکسیژن را دارا هستند [۴]. آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های دخیل در فرآیند جمع آوری و خنثی سازی گونه‌های فعال اکسیژن هستند [۴۱]. آنزیم کاتالاز فرآیند تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را بدون نیاز به سوبسترای کمکی انجام می‌دهد. آنزیم پراکسیداز با کمک سوبستراهای مختلف به عنوان دهنده الکترون و آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از مولکول آسکوربات به عنوان دهنده الکترون موجب احیاء پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند [۴۳]. به نظر می‌رسد با توجه به نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش اثر مخرب گونه‌های فعال اکسیژن، سطح حضور و فعالیت این دسته از آنزیم‌ها در گیاهان با توان تحمل به خشکی آن‌ها رابطه داشته باشد و حفظ سطوح بالاتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت شرایط تنش خشکی ممکن است از طریق افزایش توانایی سلول برای مقابله با اثرات سوء تنش اکسیداتیو در مقاومت به خشکی موثر باشد [۱].

یونجه (*Medicago sativa* L.) از قدیمی‌ترین، خوشخوراک‌ترین و مغذی‌ترین گیاه علوفه‌ای چند ساله است که در طول تاریخ بشر مورد کشت و کار قرار گرفته و به همین خاطر ملکه گیاهان علوفه‌ای نامیده شده است [۲۱]. این گیاه علوفه‌ای به طور گسترده در مناطق مختلف دنیا بویژه مناطق خشک و نیمه خشک که با محدودیت منابع آب مواجه‌اند کاشت می‌شود [۳۸]. یونجه قادر به رشد در نواحی استوایی تا عرض‌های جغرافیایی نزدیک به قطب می‌باشد [۳۱] و این امر نشان دهنده وجود مکانیسم‌های مختلف مقاومت در یونجه در برابر تنش‌های مختلف محیطی بویژه تنش خشکی است [۱۳]. مطالعات پیشین، مکانیسم‌های فیزیولوژیک [۵ و ۲۸] و مورفولوژیک [۲ و ۱۳] مقاومت به خشکی در یونجه را مورد بررسی قرار داده‌اند، هرچند مکانیسم‌های بیوشیمیایی مقاومت به خشکی در ارقام یونجه ایرانی در سطح گیاهچه و در هر دو اندام ریشه‌چه و ساقه‌چه به خوبی مورد ارزیابی قرار نگرفته است. وجود تنوع ژنتیکی بالا بین ارقام یونجه موجود در کشور می‌تواند ابزار توانمندی جهت دست‌یابی به مکانیسم‌های بیوشیمیایی درگیر در مقاومت یونجه به سطوح مختلف تنش خشکی در اختیار قرار دهد. از این رو، هدف از اجرای این مطالعه تعیین مکانیسم‌های آنزیمی دخالت کننده در مقاومت به خشکی یونجه و معرفی نشانگرهای بیوشیمیایی مناسب جهت انتخاب ارقام مقاوم به خشکی است. بر این اساس تعداد ۱۰ رقم یونجه با منشاءهای مختلف (ارقام قره یونجه، اردوبادی و همدانی از مناطق سردسیر، اصفهانی، قمی و یزدی از مناطق معتدل، ارقام بمی، نیک‌شهری و بغدادی از مناطق گرمسیر و رقم کودی به عنوان رقم خارجی) تحت سطوح مختلف تنش خشکی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۲ در آزمایشگاه‌های پژوهشی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا شد. رقم های یونجه شامل ارقام همدانی، اصفهانی، قره یونجه، نیک‌شهری، بمی، بغدادی، یزدی، اردوبادی و کودی است. تعداد شش سطح پتانسیل

آب شامل صفر، ۰/۲-، ۰/۴-، ۰/۶-، ۰/۸- و ۱- مگاپاسکال که با استفاده از ماده شیمیایی پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ که بر اساس روش مایکل و کوفمن [۳۲] ایجاد شده بود در یک آزمایش فاکتوریل (شامل دو فاکتور رقم و تیمارهای پتانسیل آب) و در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. بذرهای ارقام مختلف یونجه پس از ضد عفونی با استفاده از محلول ۱ درصد هیپوکلرید سدیم درون ژرمیناتور با دمای ۲۵ °C و تحت شرایط تاریکی نگهداری شد. پس از گذشت ۴، روز بذرهای جوانه‌زده و هم‌اندازه انتخاب و به پتریدیش‌های استریل حاوی دو لایه کاغذ صافی و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل (تیمار شاهد) و یا محلول‌های با پتانسیل اسمزی مورد نظر منتقل شد. هر پتریدیش حاوی ۳۰ عدد بذر جوانه‌زده و هر تیمار شامل چهار تکرار بود. پتریدیش‌ها به مدت ۶ روز درون اتاقک رشد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی، دمای روشنایی ۲۵°C و دمای تاریکی ۱۸° C و رطوبت نسبی ۷۵٪ نگهداری شد. به منظور پیشگیری از نوسانات پتانسیل آب درون پتریدیش‌ها در روز سوم آزمایش، به هر پتریدیش میزان ۳ میلی‌لیتر آب مقطر استریل و یا محلول با پتانسیل اسمزی مورد نظر اضافه شد. در پایان روز ششم ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌های یونجه از یکدیگر جدا و جهت سنجش صفات بیوشیمیایی شامل غلظت پراکسید هیدروژن، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و نیز پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء استفاده شد. تعیین محتوای پراکسیدهیدروژن در ساقه‌چه و ریشه‌چه ارقام مورد مطالعه با استفاده از روش ولیکف [۴۲] انجام شد.

فعالیت سه آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در ساقه‌چه و ریشه‌چه ارقام یونجه بر روی عصاره استخراج شده بر اساس روش هرزگ و فهیمی [۲۳]، برگ مائر [۸] و ناکانو واسدا [۳۵] و با اندکی تغییرات سنجش شد.

به‌منظور استخراج عصاره آنزیمی، ۰/۲ گرم نمونه مورد نظر (ریشه‌چه یا ساقه‌چه) وزن شده، با آب مقطر استریل شستشو شده و سپس ۱ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH 7) (حاوی ۲ میلی‌مولار α- Dithiothreitol، ۲ میلی‌مولار EDTA، ۲ درصد Triton x-100، ۵۰ میلی‌مولار Tris-HCl و ۲ درصد Polyvinylpyrrolidone) به آن افزوده شده و با کمک هاون چینی در دمای ۴ ° C یکنواخت شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰۰ g در دمای ۴°C سانتریفیوژ شد. محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی استفاده شد.

میزان پراکسیداسیون لیپدها در ساقه‌چه و ریشه‌چه ارقام یونجه به‌صورت غیرمستقیم و با اندازه‌گیری غلظت مالوندی‌آلدهید به روش تیوباربیتوریک اسید که توسط هیث و پارکر [۲۲] شرح داده شده انجام گرفت.

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج به دست آمده، اثر پتانسیل آب بر محتوای پراکسیدهیدروژن و مالوندی‌آلدهید و نیز فعالیت همهٔ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی در ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌های یونجه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

محتوای پراکسید هیدروژن

نتایج نشان داد با افزایش خشکی محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام یونجه افزایش می‌یابد (جدول ۲). رقم همدانی درپتانسیل‌های صفر، ۰/۲-، ۰/۶- و ۱-، رقم اصفهانی در پتانسیل ۰/۴- و رقم اردوبادی در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال بیشترین محتوای پراکسید هیدروژن ریشه‌چه را دارا بودند. همچنین رقم اصفهانی در پتانسیل صفر، رقم اردوبادی در پتانسیل‌های ۰/۲- و ۱-، رقم کودی در پتانسیل ۰/۴-، رقم همدانی در پتانسیل ۰/۶- و رقم قره یونجه در پتانسیل ۰/۸- مگاپاسکال بیشترین محتوای پراکسید هیدروژن ساقه‌چه را دارا بودند (جدول ۳). نتایج نشان داد افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در ساقه‌چه به مراتب بیشتر از ریشه‌چه بود، به‌گونه‌ای که در

پایین‌ترین سطح پتانسیل آب (۱- مگاپاسکال) محتوای پراکسید هیدروژن درساقه‌چه ۲۴۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت، در حالی‌که این میزان در ریشه‌چه تنها ۸۹ درصد بود. در مطالعه وانگ و همکاران [۴۳] نیز افزایش تنش خشکی باعث افزایش ۱۳۶ درصد در محتوای پراکسید هیدروژن ساقه‌چه و تنها ۶۴ درصد افزایش محتوای آن در ریشه‌چه یونجه گردید. محتوای کمتر پراکسید هیدروژن در ریشه‌چه یونجه در مقایسه با ساقه‌چه در مواجه با تنش خشکی می‌تواند ناشی از وقوع تنش اکسیداتیو با شدت کمتر در ریشه‌چه از یک سو [۴۳] و یا فعالیت بیشتر برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه‌چه نسبت به ساقه‌چه از سوی دیگر باشد [۳۴]. در شرایط تنش خشکی به دلیل تغییرات ساختاری که در سطح سلولی در ریشه اتفاق می‌افتد هدایت هیدرولیکی ریشه برای آب به سمت اندام هوایی کاهش می‌یابد و این مورد نیز می‌تواند در کاهش بیشتر محتوای آب سلولی در ساقه‌چه و افزایش احتمال وقوع تنش اکسیداتیو در آن نسبت به ریشه‌چه نقش داشته باشد [۲۸].

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پتانسیل‌های آبی مختلف بر محتوای پراکسید هیدروژن ریشه‌چه (rH_2O_2) و ساقه‌چه (sH_2O_2)، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ریشه‌چه (rCAT) و ساقه‌چه (sCAT)، پراکسیداز ریشه‌چه (rPOX) و ساقه‌چه (sPOX)، آسکوربات پراکسیداز ریشه‌چه (rAPX) و ساقه‌چه (sAPX) و محتوای مالون دی‌آلدهید ریشه‌چه (rMDA) و ساقه‌چه (sMDA) ارقام یونجه در شرایط آزمایشگاهی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		rH_2O_2	sH_2O_2	rCAT	sCAT	rPOX	sPOX	rAPX	sAPX	rMDA	sMDA
پتانسیل آب	۵	۱۴۵۳۰۴/۶۹**	۸۲۹۴۷۹/۷**	۰/۸۰**	۱۲/۰۱**	۱۵۳/۴۰**	۱/۶۶**	۰/۳۵**	۰/۳۵**	۱۳۵۹/۸۶**	۱۰۷۰۰/۸۱**
رقم	۹	۶۲۴۳/۰۷**	۱۰۷۵۴۳/۳۵**	۰/۰۹۷**	۷/۱۸**	۰/۱۰**	۰/۱۴**	۰/۰۹**	۰/۱۳**	۸۷/۹۶**	۱۱۶۲/۷۳**
پتانسیل آب × رقم	۴۵	۵۷۵/۰۶**	۱۳۹۳۸/۲۰**	۰/۰۱۰**	۰/۷۷**	۰/۰۶**	۰/۰۳۶**	۰/۰۲**	۰/۰۲**	۷/۹۷**	۱۴۸/۰۷**
خطا	۱۸۰	۹۳/۵۷	۳۱۱/۷۶	۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۱/۶۸	۱/۸۶

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر اصلی سطوح مختلف پتانسیل آب و رقم بر محتوای پراکسید هیدروژن ساقه‌چه (sH_2O_2) و ریشه‌چه (rH_2O_2) و مالون دی‌آلدهید ساقه‌چه (sMDA) و ریشه‌چه (rMDA) توده‌های یونجه در شرایط آزمایشگاهی

پتانسیل آب (مگاپاسکال)	sH_2O_2 (نانومول بر گرم وزن تر)	rH_2O_2 (نانومول بر گرم وزن تر)	sMDA (نانومول بر گرم وزن تر)	rMDA (نانومول بر گرم وزن تر)
تیمار				
۰	۱۵۴/۱f	۱۶۸/۲f	۸/۹f	۵/۶f
-۰/۲	۲۲۶/۳e	۱۹۷/۲e	۱۷/۱e	۸/۳e
-۰/۴	۲۸۹/۵d	۲۳۰/۹d	۲۵/۲d	۱۰/۹d
-۰/۶	۳۷۱/۴c	۲۶۲/۸c	۳۵/۸c	۱۴/۸c
-۰/۸	۴۶۰/۶b	۲۹۴/۴b	۴۴/۶b	۱۸/۰b
-۱	۵۲۷/۳a	۳۱۷/۰a	۵۲/۴a	۲۱/۲a
رقم				
بمی	۲۸۳/۸e	۲۴۴/۷c	۲۳/۶f	۱۱/۰e
اصفهانی	۳۷۸/۸c	۲۵۸/۱b	۳۳/۳d	۱۴/۹b
نیکشهری	۲۹۱/۸e	۲۱۷/۰e	۲۲/۳g	۱۲/۲d
قمی	۲۸۳/۴e	۲۲۲/۲e	۱۸/۵h	۹/۹f
قره یونجه	۳۸۸/۵c	۲۵۳/۰b	۳۰/۸e	۱۲/۶cd
کودی	۴۰۰/۶b	۲۵۲/۵b	۳۴/۶c	۱۳/۳c
یزدی	۳۲۵/۸d	۲۴۵/۸c	۳۰/۹e	۱۳/۳c
بغدادی	۲۴۲/۰f	۲۲۹/۸d	۲۱/۶g	۱۲/۴d
اردوبادی	۴۱۵/۲a	۲۵۹/۸ab	۴۰/۰a	۱۵/۸a
همدانی	۴۰۹/۸ab	۲۶۴/۰a	۳۸/۸b	۱۵/۶ab

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل پتانسیل آب و رقم بر محتوای پراکسید هیدروژن ریشه‌چه (rH_2O_2) و ساقه‌چه (sH_2O_2) (نانومول بر گرم وزن تر) یونجه در شرایط آزمایشگاهی

رقم	پتانسیل آب (مگاپاسکال)											
	rH_2O_2						sH_2O_2					
	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱
بمی	۱۷۴/۶ z-c’	۱۷۵/۰ z-c’	۲۰۷/۳ u-w	۲۵۹/۷ m-o	۲۷۹/۹ h-k	۳۰۱/۷ g	۱۰۷/۵ v	۱۶۷/۵ rs	۱۷۱/۳ rs	۳۲۵/۰ k-m	۳۵۷/۵ i	۳۹۷/۵ h
اصفهانی	۱۷۵/۰ z-c’	۱۹۹/۹ wx	۲۶۱/۲ m-o	۲۶۲/۴ mn	۳۰۸/۱ e-g	۳۴۱/۸ ab	۱۷۵/۰ rs	۲۳۲/۴ o	۳۳۲/۵ j-l	۴۴۰/۰ g	۴۹۶/۵ f	۵۹۵/۵ cd
نیکشهری	۱۵۲/۵ d’e’	۱۶۸/۹ b’-d’	۲۰۲/۴ vw	۲۳۰/۲ st	۲۶۳/۷ l-n	۲۴۸/۴ hi	۱۲۷/۵ uv	۱۵۴/۰ st	۲۰۲/۵ pq	۲۵۰/۰ o	۳۵۵/۰ ij	۴۷۹/۵ f
قمی	۱۵۷/۵ d’e’	۱۷۲/۱ a’-c’	۲۲۰/۷ tu	۲۴۸/۰ o-q	۲۵۷/۶ m-p	۲۷۷/۱ h-k	۱۳۲/۵ tu	۱۶۵/۰ rs	۲۸۰/۰ n	۳۰۷/۵ m	۳۲۲/۰ k-m	۳۴۲/۵ i-k
قره یونجه	۱۶۵/۰ b’-e’	۱۹۵/۸ w-y	۲۳۲/۸ r-t	۲۶۹/۷ j-n	۳۱۸/۰ d-f	۳۳۶/۵ ab	۱۷۳/۸ rs	۲۳۳/۷ o	۳۲۰/۰ k-m	۴۰۶/۰ h	۵۸۰/۰ d	۶۱۷/۴ bc
کودی	۱۶۲/۵ c’-e’	۱۸۳/۹ y-a’	۲۵۶/۳ n-q	۲۶۷/۶ k-n	۳۱۵/۲ e-g	۳۲۹/۸ b-d	۱۶۸/۸ rs	۱۸۰/۰ qr	۴۰۳/۳ h	۴۴۲/۵ g	۵۷۵/۰ d	۶۳۳/۹ ab
یزدی	۱۷۲/۵ a’-c’	۱۸۷/۷ x-z	۲۱۴/۰ uv	۲۵۸/۱ m-p	۳۰۳/۴ g	۳۳۹/۰ ab	۱۷۱/۳ rs	۱۷۷/۵ rs	۲۰۷/۵ p	۳۲۵/۰ k-m	۴۸۲/۳ f	۵۹۱/۴ d
بغدادی	۱۷۵/۰ z- c’	۱۸۷/۸ x-z	۲۲۰/۴ tu	۲۴۳/۴ q-s	۲۷۰/۹ i-m	۲۸۱/۵ h-j	۱۵۹/۵ rs	۱۷۲/۵ rs	۲۳۲/۵ o	۲۴۵/۰ o	۳۱۷/۵ lm	۳۲۴/۷ k-m
اردوبادی	۱۷۰/۰ b’-d’	۱۹۸/۸ wx	۲۴۸/۷ o-q	۲۸۷/۴ h	۳۲۱/۰ c-e	۳۳۲/۹ a-c	۱۶۳/۳ rs	۲۳۷/۵ o	۳۸۵/۰ h	۴۷۷/۵ f	۵۷۷/۵ d	۶۵۰/۶ a
همدانی	۱۷۷/۵ z-b’	۲۰۸/۰ u-w	۲۴۴/۹ p-r	۳۰۲/۱ g	۳۰۶/۰ fg	۳۴۵/۳ a	۱۶۱/۵rs	۲۷۷/۵ n	۳۶۰/۰ i	۴۹۵/۰ f	۵۴۲/۵ e	۶۲۲/۵ b
LSD (5%)	۱۳/۵						۲۴/۴					

غلظت مالوندی‌آلدهید

نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی، غلظت مالون دی‌آلدهید ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام یونجه افزایش یافته است (جدول ۲). رقم همدانی در پتانسیل‌های صفر و ۰/۸- و رقم اردوبادی در پتانسیل‌های ۰/۲-، ۰/۴-، ۰/۶- و ۱- مگاپاسکال بیشترین غلظت مالوندی‌آلدهید ریشه‌چه را دارا هستند. همچنین رقم بمی در پتانسیل صفر، رقم اردوبادی در پتانسیل‌های ۰/۲-، ۰/۴- و ۱- و رقم همدانی درپتانسیل‌های ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال بیشترین غلظت مالوندی‌آلدهید ساقه‌چه را داشتند (جدول ۴). نتایج نشان داد افزایش غلظت مالوندی‌آلدهید درساقه‌چه به مراتب بیشتر از ریشه‌چه بود به‌گونه‌ای که در ریشه‌چه ۲۷۹ درصد و در ساقه‌چه ۴۸۹ درصد افزایش یافت. این امر نشان‌دهنده وقوع آسیب بیشتر به غشاءهای سلولی در ساقه‌چه نسبت به ریشه‌چه است و ممکن است به فعالیت بیشتر سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه‌چه و پتانسیل پایین‌تر وقوع تنش اکسیداتیو در ریشه‌چه نسبت به ساقه‌چه مربوط باشد [۴۳]. تفاوت ارقام مختلف از نظر غلظت مالوندی‌آلدهید ریشه‌چه و ساقه‌چه نشان‌دهنده تفاوت بین آن‌ها در مواجه با تنش اکسیداتیو است. به‌نظر می‌رسد مقاومت ارقام مختلف یک گونه به خشکی با محتوای مالوندی‌آلدهید در ریشه‌چه و ساقه‌چه آن‌ها در ارتباط باشد [۷]. وجود مقادیر کمتر مالوندی‌آلدهید در یک رقم در مقایسه با دیگر ارقام نشان‌دهنده مقاومت بیشتر آن رقم به خشکی است [۳ و ۱۷]. در مطالعه وانگ و همکاران [۴۳] رقم یونجه مقاوم به‌خشکی به‌طور معنی‌داری غلظت مالوندی‌آلدهید ریشه‌چه و ساقه‌چه کمتری تحت شرایط تنش خشکی نسبت به‌رقم حساس داشت. در مطالعه ایشان غلظت مالوندی‌آلدهید در ریشه‌چه رقم حساس ۱/۲ برابر بیشتر از رقم مقاوم به‌خشکی بود. در ریشه‌چه رقم حساس به‌خشکی ۲۵۰ درصد در تیمار ۳۵ درصد پلی اتیلن گلایکول بیشتر از شاهد و در رقم مقاوم ۱۲۰ درصد بیشتر از شاهد گزارش شد. همچنین غلظت مالوندی‌آلدهید ساقه‌چه نیز در رقم حساس ۴۸۵ درصد و در رقم مقاوم به‌خشکی ۲۷۹ درصد افزایش یافت. در مطالعه نصر اصفهانی [۳۶] میزان پراکسیدهیدروژن با افزایش شدت تنش خشکی در ارقام نخود افزایش یافت و میزان افزایش کاملاً تحت تاثیر رقم قرار داشت.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل پتانسیل آب و رقم بر محتوای مالون دی‌آلدهید ریشه‌چه (rMDA) و ساقه‌چه (sMDA) (نانومول بر گرم وزن تر) یونجه در شرایط آزمایشگاهی

رقم	پتانسیل آب (مگاپاسکال)											
	rMDA						sMDA					
	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱
بمی	۵/۷ y-a’	۶/۳ w-a’	۷/۶ t-x	۱۳/۰ n	۱۵/۰ j-m	۱۸/۷ e-g	۹/۴ u	۹/۸ tu	۱۰/۳ tu	۳۲/۰ n	۳۶/۷ j-l	۴۳/۵ f
اصفهانی	۵/۵ y-a’	۹/۶ o-s	۱۳/۰ n	۱۵/۹ h-k	۲۱/۰ b-d	۲۴/۵ a	۹/۰ u	۲۵/۵ p	۳۴/۴ m	۴۱/۵ gh	۵۶/۴ cd	۵۹/۴ b
نیکشهری	۵/۸ x-a’	۸/۲ r-v	۹/۱ p-t	۱۳/۵ mn	۱۷/۵ f-h	۱۹/۳ d-f	۹/۲ u	۱۱/۵ t	۲۲/۳ r	۲۸/۸ o	۳۹/۸ hi	۴۱/۵ gh
قمی	۴/۵ a’	۵/۴ y-a’	۸/۶ q-u	۱۱/۱ o	۱۳/۵ mn	۱۶/۲ h-j	۸/۶ u	۹/۵ u	۱۸/۸ s	۲۵/۰ pq	۳۰/۵ no	۳۱/۵ n
قره یونجه	۵/۳ y-a’	۸/۶ q-u	۱۰/۰ o-r	۱۴/۲ k-n	۱۶/۹ g-i	۲۰/۹ b-d	۸/۶ u	۲۱/۷ r	۲۲/۰ r	۳۵/۱ lm	۴۲/۰ fg	۵۵/۵ d
کودی	۴/۸ za’	۹/۱ p-t	۱۳/۱ n	۱۵/۳ i-m	۱۷/۴ gh	۲۰/۱ c-e	۸/۷ u	۱۷/۳ s	۳۵/۰ lm	۳۹/۴ i	۴۹/۵ e	۵۷/۵ c
یزدی	۵/۸ x-a’	۸/۰ s-w	۱۰/۸ op	۱۵/۴ i-l	۱۷/۴ gh	۲۲/۲ b	۸/۷ u	۱۷/۳ s	۲۳/۵ qr	۳۷/۵ j	۴۱/۰ g-i	۵۷/۵ c
بغدادی	۶/۳ w-a’	۷/۰ u-y	۱۰/۳ o-q	۱۵/۴ i-l	۱۷/۳ gh	۱۸/۳ e-g	۸/۵ u	۱۰/۸ tu	۱۸/۷ s	۳۰/۵ m	۳۵/۵ k-m	۳۷/۳ jk
اردوبادی	۶/۳ w-a’	۱۰/۲ o-q	۱۳/۹ l-n	۱۷/۰ ghi	۲۱/۷ bc	۲۶/۰ a	۹/۱ u	۲۵/۶ p	۳۵/۲ lm	۴۱/۸ fg	۵۷/۳ cd	۷۱/۳ a
همدانی	۶/۶ v-z	۹/۵ o-s	۱۳/۱ n	۱۷/۰ ghi	۲۱/۸ bc	۲۵/۷ a	۹/۳ u	۲۲/۴ r	۳۱/۸ n	۴۲/۰ fg	۵۷/۸ bc	۶۹/۵ a
LSD (5%)	۱/۸						۱/۹					

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی تا پتانسیل آب ۰/۶- مگاپاسکال فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه‌چه و ساقه‌چه یونجه افزایش می‌یابد (جدول ۵). رقم یزدی در تیمارهای صفر، ۰/۲- و ۰/۴- و رقم بغدادی در تیمارهای ۰/۶-، ۰/۸- و ۱- مگاپاسکال بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه‌چه را دارا هستند. همچنین رقم یزدی در تیمار صفر و رقم بغدادی در سایر تیمارهای آزمایشی بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز ساقه‌چه را دارا بودند (جدول۶). افزایش فعالیت کاتالاز با افزایش تنش خشکی در گیاهچه‌های یونجه [۴۳]، گندم [۱۴]، برنج [۲۹] و کنجد [۲۶] گزارش شده است. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم کاتالاز هم در ریشه‌چه و هم در ساقه‌چه یونجه با کاهش پتانسیل آب افزایش می‌یابد، ولی این افزایش در ساقه‌چه به‌طور قابل توجهی بیشتر از ریشه‌چه بود به‌گونه‌ای که فعالیت آنزیم کاتالاز در ساقه‌چه ۲۸۰ درصد و در ریشه‌چه تنها ۳۰ درصد افزایش پیدا کرد (جدول ۵) که با نتایج مطالعه وانگ و همکاران [۴۳] که افزایش ۲۲۵ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز در ساقه‌چه گیاهچه‌های یونجه نسبت به عدم تغییر فعالیت آن در ریشه‌چه را گزارش کردند مطابقت دارد. به طور کلی، ارقامی که فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتری در ریشه‌چه و ساقه‌چه خود داشتند از محتوای مالوندی‌آلدهید کمتری برخوردار بودند که نشان‌دهنده نقش کاتالاز در مقاومت به تنش اکسیداتیو ناشی از وقوع تنش خشکی است (جدول‌های ۴ و ۶).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

با افزایش خشکی فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام مورد مطالعه افزایش یافت (جدول ۵). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام مقاوم گیاهچه‌های یونجه [۴۳]، گندم [۱۴]، برنج [۲۹] و کنجد [۲۶] گزارش شده است. رقم نیک‌شهری در پتانسیل صفر، رقم قمی در پتانسیل ۰/۲- و رقم بغدادی در پتانسیل‌های ۰/۴-، ۰/۶-، ۰/۸- و ۱- مگاپاسکال بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه‌چه را دارا بودند. همچنین رقم قمی در پتانسیل صفر و ۰/۸-، رقم نیک‌شهری در پتانسیل ۰/۲- و ۱-، رقم یزدی در پتانسیل ۰/۴- و رقم بمی در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه‌چه را دارند (جدول ۷). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در ساقه‌چه ارقام یونجه به طور قابل توجهی کمتر از فعالیت آن در ریشه‌چه بود، ولی میزان افزایش هر دو با کاهش پتانسیل آب تقریباً ۲۱۰ درصد بود که با مطالعه وانگ و همکاران [۴۳] در یونجه و دهشیری و همکاران [۱۲] در کلزا مطابقت دارد. فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌ویژه در ریشه‌چه گیاهچه‌های ارقام بغدادی،

قمی، بمی و نیک‌شهری که از محتوای پراکسیدهیدروژن و مالوندی‌آلدهید کمتری برخوردار بودند، به‌طورمعنی‌داری بیشتر از ارقام دیگر بود. فعالیت بیشتر آنزیم پراکسیداز در ریشه‌چه به چگونگی کارکرد آن در سلول‌ها و نیز محل تولید آن‌ها بستگی دارد. انواع مختلف آنزیم پراکسیداز (ایزوفرم‌های پراکسیداز) نه تنها از طریق جمع‌آوری پراکسیدهیدروژن در مقاومت به‌خشکی نقش دارد بلکه در رشد و نمو گیاه، چوب پنبه‌ای شدن، اتصالات سلولی، چوبی شدن، اکسیداسیون فنول‌ها و سمیت‌زدایی ترکیبات سمی که همگی در افزایش مقاومت به‌تنش خشکی نقش مهمی دارند، دخالت دارند [۱]. از دیگر دلایل فعالیت بیشتر آنزیم پراکسیداز در ریشه‌چه یونجه می‌تواند نقش آن در تغییر الگوی هدایت هیدرولیکی ریشه برای انتقال آب و مواد غذایی باشد [۲۸].

فعالیت آنزیمآسکوربات پراکسیداز

با افزایش خشکی تا سطح پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام یونجه افزایش یافت (جدول ۵). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط تنش خشکی در گیاهچه‌های یونجه [۴۳]، گندم [۱۴]، برنج [۲۹] و کنجد [۲۶] گزارش شده است. رقم قمی در پتانسیل صفر و ۰/۸-، رقم بغدادی در پتانسیل ۰/۲- و ۰/۴-، رقم بمی در پتانسیل ۰/۶- و رقم نیک‌شهری در پتانسیل ۱- مگاپاسکال بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه‌چه را دارا بودند. همچنین رقم قمی در پتانسیل صفر، رقم بغدادی در پتانسیل ۰/۲-، ۰/۴-، ۰/۸- و ۱- و رقم بمی در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ساقه‌چه را داشتند (جدول ۸). نتایج نشان داد ارقامی که محتوای پراکسیدهیدروژن و مالوندی‌آلدهید کمتری در ریشه‌چه و ساقه‌چه خود دارند از فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بالاتری برخوردار هستند (جدول‌های ۳، ۴ و ۸). وانگ و همکاران [۴۳] نیز رابطه بین پراکسیداسیون کمتر چربی‌ها با فعالیت بیشتر آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در یونجه گزارش کردند.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر اصلی سطوح مختلف پتانسیل آب و رقم بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ساقه‌چه (sCAT) و ریشه‌چه (rCAT)، پراکسیداز ساقه‌چه (sPOX) و ریشه‌چه (rPOX)، آسکوربات پراکسیداز ساقه‌چه (sAPX) و ریشه‌چه (rAPX) (nanomol H_2O_2 mg protein^{-1} min^{-1})توده‌های یونجه در شرایط آزمایشگاهی

تیمار						
پتانسیل آب (مگاپاسکال)	sCAT	rCAT	sPOX	rPOX	sAPX	rAPX
۰	۰/۴۸۰f	۰/۲۰۳d	۰/۲۲۲e	۱/۰۹۶e	۰/۱۶۴d	۰/۲۰۴c
-۰/۲	۱/۱۵۹d	۰/۲۳۶bc	۰/۴۴۰c	۱/۹۸۶c	۰/۲۵۲b	۰/۲۳۷b
-۰/۴	۱/۷۵۳b	۰/۲۵۱ab	۰/۶۷۸a	۲/۷۵۹b	۰/۳۱۷a	۰/۲۹۳a
-۰/۶	۱/۸۲۵a	۰/۲۶۵a	۰/۵۴۲b	۳/۴۵۸a	۰/۳۲۴a	۰/۲۹۹a
-۰/۸	۱/۲۲۶c	۰/۲۲۲c	۰/۲۷۱d	۱/۸۰۷d	۰/۱۸۷c	۰/۱۶۳d
-۱	۰/۸۹۳e	۰/۱۸۰e	۰/۱۶۹f	۰/۹۱۹f	۰/۱۳۱e	۰/۰۹۲e
رقم						
بمی	۱/۵۸۷c	۰/۲۶۱bc	۰/۴۵۲b	۲/۵۶۸b	۰/۳۱۶c	۰/۲۹۸a
اصفهانی	۰/۷۴۴g	۰/۱۸۸d	۰/۳۴۰e	۱/۳۸۹f	۰/۱۴۹f	۰/۱۴۸
نیکشهری	۱/۴۴۱d	۰/۲۶۴bc	۰/۴۸۱a	۲/۳۱۴c	۰/۳۴۸b	۰/۲۸۵a
قمی	۲/۰۲۱b	۰/۲۸۰b	۰/۴۹۸a	۲/۸۷۳a	۰/۳۷۷a	۰/۲۸۹a
قره یونجه	۰/۸۸۲f	۰/۱۷۶de	۰/۳۶۲d	۱/۷۱۱e	۰/۱۶۶ef	۰/۱۴۱c
کودی	۰/۸۳۹f	۰/۱۷۸de	۰/۳۷۸cd	۱/۷۲۰e	۰/۱۷۹e	۰/۱۵۱c
یزدی	۱/۲۲۳e	۰/۲۵۲c	۰/۳۸۷c	۱/۸۶۳d	۰/۲۳۵d	۰/۲۲۹b
بغدادی	۲/۶۱۹a	۰/۳۴۲a	۰/۴۵۲b	۲/۸۹۸a	۰/۳۴۶b	۰/۲۷۸a
اردوبادی	۰/۴۴۱h	۰/۱۵۳f	۰/۲۹۱g	۱/۴۱۷f	۰/۱۵۳f	۰/۱۳۹c
همدانی	۰/۴۳۰h	۰/۱۶۴ef	۰/۳۱۳f	۱/۳۸۶f	۰/۱۶۰ef	۰/۱۴۰c

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل پتانسیل آب و رقم بر فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه‌چه (rCAT) و ساقه‌چه (sCAT) (nanomol H_2O_2 mg protein^{-1} min^{-1}) یونجه در شرایط آزمایشگاهی

	پتانسیل آب (مگاپاسکال)											
	rCAT						sCAT					
رقم	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱
بمی	۰/۱۹۲ l-u	۰/۲۴۴ f-l	۰/۳۴۵ cd	۰/۳۵۸ bc	۰/۲۳۶ f-l	۰/۱۹۲ l-u	۰/۴۸۳ z-b’	۱/۳۲۰p-r	۲/۳۸۴ gh	۲/۷۰۱ d	۱/۴۹۷ m-o	۱/۱۳۵ st
اصفهانی	۰/۲۰۰ j-s	۰/۲۵۰ e-j	۰/۱۹۶ k-t	۰/۱۷۵ n-v	۰/۱۵۶ r-v	۰/۱۵۵ r-v	۰/۴۳۷ b’c’	۱/۰۳۳ tu	۱/۱۲۷ st	۱/۰۱۰ tu	۰/۶۲۸ w-y	۰/۲۳۰ d’
نیکشهری	۰/۲۲۱ g-n	۰/۲۵۳ e-i	۰/۳۰۲ de	۰/۳۳۹ cd	۰/۲۵۶ e-h	۰/۲۱۲ h-q	۰/۳۳۶ c’d’	۱/۳۹۰ op	۱/۹۳۴ k	۲/۲۴۷ hi	۱/۵۳۸ mn	۱/۲۰۱ rs
قمی	۰/۲۰۷ h-r	۰/۲۷۰ e-g	۰/۳۴۷ cd	۰/۴۱۰ b	۰/۲۲۸ f-m	۰/۲۲۲ g-n	۰/۵۹۶ x-a’	۱/۳۹۵ op	۲/۵۴۶ ef	۳/۰۰۹ c	۲/۴۴۵ fg	۲/۱۳۶ ij
قره یونجه	۰/۲۲۱ g-n	۰/۲۴۵ f-k	۰/۱۵۴ s-v	۰/۱۵۰ s-v	۰/۱۴۵ t-v	۰/۱۴۳ uv	۰/۴۵۹ a’-c’	۰/۹۶۷ u	۱/۴۳۰ n-p	۱/۲۴۵ q-s	۰/۷۸۵ v	۰/۴۰۸ b’c’
کودی	۰/۱۶۸ o-v	۰/۱۸۲ m-u	۰/۱۷۱ n-v	۰/۲۱۶ h-o	۰/۱۶۷ o-v	۰/۱۶۵ o-v	۰/۳۳۲ c’d’	۰/۷۱۰ v-x	۱/۴۸۴ m-o	۱/۳۶۲ o-q	۰/۹۳۲ u	۰/۲۱۲ d’
یزدی	۰/۲۳۶ f-l	۰/۳۴۹ cd	۰/۳۵۰ cd	۰/۲۱۱ h-q	۰/۲۰۲ i-s	۰/۱۶۳ p-v	۰/۶۴۳ w-y	۱/۴۴۸ n-p	۱/۷۷۱ l	۱/۵۹۹ m	۱/۱۲۷ st	۰/۷۵۳ vw
بغدادی	۰/۲۰۷ h-r	۰/۲۴۶ f-k	۰/۳۳۰ cd	۰/۴۸۷ a	۰/۵۳۷ a	۰/۲۷۵ ef	۰/۶۰۰ x-z	۲/۰۴۷ jk	۳/۷۲۱ b	۴/۲۶۳ a	۲/۶۵۸ de	۲/۴۲۷ fg
اردوبادی	۰/۱۶۶ o-v	۰/۱۶۲ p-v	۰/۱۵۸ r-v	۰/۱۵۲ s-v	۰/۱۴۷ s-v	۰/۱۲۹ v	۰/۴۵۲ b’c’	۰/۶۳۷ w-y	۰/۶۰۴ x-z	۰/۴۰۴ b’c’	۰/۳۳۷ c’d’	۰/۲۱۰ d’
همدانی	۰/۲۱۴ h-p	۰/۱۶۳ p-v	۰/۱۶۱ q-v	۰/۱۵۶ r-v	۰/۱۵۱ t-v	۰/۱۴۲ uv	۰/۴۸۰ z-b’	۰/۶۴۱ w-y	۰/۵۲۶ y-b’	۰/۴۱۴ b’c’	۰/۳۱۹ c’d’	۰/۲۱۸d’
LSD (5%)	۰/۰۴۱						۰/۱۴۱					

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل پتانسیل آب و رقم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه‌چه (rPOX) و ساقه‌چه (sPOX) (nanomol H_2O_2 mg protein^{-1} min^{-1}) یونجه در شرایط آزمایشگاهی

	پتانسیل آب (مگاپاسکال)											
	rPOX						sPOX					
رقم	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	۰-/۸	-۱	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱
بمی	۱/۲۴۳ o	۲/۰۹۶ l	۳/۲۸۹ d	۵/۵۲۶ b	۲/۲۹۱ i	۰/۹۶۳ st	۰/۲۲۵ qr	۰/۴۳۳ e-h	۰/۷۵۰ b	۰/۸۱۲ a	۰/۳۳۸ k-n	۰/۱۵۶ s-u
اصفهانی	۰/۸۴۷ uv	۱/۱۲۳ qr	۲/۰۷۸ l	۱/۷۵۰ m	۱/۱۴۵ p-r	۰/۸۱۸ v	۰/۲۰۹ r-t	۰/۳۷۳h-l	۰/۶۴۵ c	۰/۴۱۱ f-j	۰/۲۵۸ o-r	۰/۱۴۲ u
نیکشهری	۱/۲۵۱ o	۱/۸۳۱ m	۲/۹۵۰ e	۴/۵۲۶ c	۲/۲۶۶ i	۱/۰۵۸ rs	۰/۲۲۲ qr	۰/۶۴۷ c	۰/۷۳۱ b	۰/۷۴۵ b	۰/۲۸۸ m-p	۰/۲۵۵ o-r
قمی	۱/۲۰۹ o-q	۲/۱۹۴ i-k	۳/۲۳۷ d	۶/۴۹۱ a	۲/۹۱۳ e	۱/۱۹۳ o-q	۰/۲۴۷ p-r	۰/۴۳۵ e-g	۰/۷۰۶ bc	۰/۷۶۲ ab	۰/۳۴۰ k-m	۰/۲۳۲ p-r
قره یونجه	۱/۱۲۶ qr	۲/۱۱۴ kl	۲/۵۱۹ g	۲/۳۹۶ h	۱/۲۵۵ o	۰/۸۵۳ uv	۰/۲۱۸ qr	۰/۴۴۵ ef	۰/۶۶۰ c	۰/۴۲۳ e-i	۰/۲۷۷ n-q	۰/۱۴۸ tu
کودی	۱/۲۱۶ o-q	۲/۰۸۸ l	۲/۶۸۰ f	۲/۲۴۰ i	۱/۲۵۷ o	۰/۸۳۸ uv	۰/۲۱۴ rs	۰/۴۳۸ ef	۰/۷۲۵ b	۰/۳۶۳ i-l	۰/۱۵۱ tu	۰/۱۳۶ u
یزدی	۱/۲۰۶ o-q	۲/۰۸۷ l	۳/۲۴۰ d	۲/۲۹۱ i	۱/۵۰۵ n	۰/۸۴۶ uv	۰/۲۱۴ rs	۰/۴۲۱ f-i	۰/۷۶۰ ab	۰/۵۱۹ d	۰/۲۵۶ o-r	۰/۱۵۴ s-u
بغدادی	۱/۲۲۹ op	۲/۱۲۳ kl	۳/۲۴۱ d	۶/۵۱۷ a	۲/۹۹۳ e	۱/۲۷۸ o	۰/۲۱۹ r-t	۰/۴۸۳ de	۰/۷۲۷ b	۰/۷۳۴ b	۰/۳۱۴l-o	۰/۲۴۸ p-r
اردوبادی	۰/۷۰۸ w	۲/۰۸۳ l	۲/۲۲۳ ij	۱/۵۷۷ n	۱/۲۳۷ op	۰/۶۷۵ w	۰/۲۱۸ qr	۰/۳۷۵ g-l	۰/۵۴۰ d	۰/۲۵۵ o-r	۰/۲۳۸ p-r	۰/۱۲۰ u
همدانی	۰/۹۲۵ tu	۲/۱۲۰ kl	۲/۱۳۱ j-l	۱/۲۶۷ o	۱/۲۰۹ o-q	۰/۶۶۲ w	۰/۲۴۶ p-r	۰/۳۵۴ j-l	۰/۵۳۷ d	۰/۳۹۱ f-k	۰/۲۵۰ p-r	۰/۱۰۲ u
LSD (5%)	۰/۰۲۳						۰/۰۵۱					

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل پتانسیل آب و رقم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه‌چه (rAPX) و ساقه‌چه (sAPX) یونجه در شرایط آزمایشگاهی (nanomol H_2O_2 mg protein^{-1} min^{-1})

رقم	پتانسیل آب (مگاپاسکال)											
	rAPX						sAPX					
	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱	۰	-۰/۲	-۰/۴	-۰/۶	-۰/۸	-۱
بمی	۰/۱۴۵ p-t	۰/۲۳۸ j-m	۰/۳۶۸ d-f	۰/۴۹۱ a	۰/۲۵۰ j-l	۰/۱۰۹r-v	۰/۱۹۲l-p	۰/۲۳۵ i-l	۰/۳۸۷ bcd	۰/۵۶۳ a	۰/۲۵۲ h-k	۰/۱۴۳ p-r
اصفهانی	۰/۰۹۰ s-v	۰/۲۱۷ l-n	۰/۱۵۱ p-s	۰/۱۵۰ p-s	۰/۱۳۰ q-v	۰/۰۸۲ t-v	۰/۱۴۰ p-r	۰/۲۰۹ k-m	۰/۱۴۸ o-r	۰/۱۴۰ p-r	۰/۱۳۰ q-s	۰/۱۲۵ r-t
نیکشهری	۰/۱۴۹ p-s	۰/۲۶۶ i-l	۰/۳۰۱ g-j	۰/۴۶۷ ab	۰/۲۴۳ j-l	۰/۱۳۳ q-u	۰/۲۰۶ k-n	۰/۳۵۳ c-f	۰/۵۱۳ a	۰/۴۲۴ b	۰/۲۴۴ h-l	۰/۱۵۷ m-r
قمی	۰/۱۷۴ m-q	۰/۲۰۷ l-p	۰/۳۹۴ c-e	۰/۴۴۸ a-c	۰/۲۸۵ h-k	۰/۱۱۲q-v	۰/۲۴۱ h-l	۰/۲۷۴ g-j	۰/۴۰۵ bc	۰/۵۱۸ a	۰/۳۱۳ e-g	۰/۱۵۷ m-r
قره یونجه	۰/۰۸۹ s-v	۰/۱۲۴ q-v	۰/۲۶۰ i-l	۰/۲۳۲ k-m	۰/۰۷۸ uv	۰/۰۶۶ v	۰/۱۴۲ p-r	۰/۱۴۷ o-r	۰/۲۹۴ gh	۰/۲۳۰ j-l	۰/۱۰۸ r-t	۰/۰۷۶ st
کودی	۰/۰۹۳ s-v	۰/۱۶۶ n-r	۰/۳۳۴ e-h	۰/۱۵۲ o-s	۰/۰۹۳ s-v	۰/۰۶۷ v	۰/۱۴۸ o-r	۰/۱۶۰ m-r	۰/۳۶۰ c-e	۰/۱۸۷ l-q	۰/۱۴۲ p-r	۰/۰۷۶ st
یزدی	۰/۰۹۶ s-v	۰/۲۱۶ l-o	۰/۳۵۳ d-g	۰/۳۶۴ d-g	۰/۱۳۰ q-v	۰/۰۸۲ t-v	۰/۱۳۵ p-r	۰/۲۰۲ k-o	۰/۳۸۸ bc	۰/۳۲۹ e-g	۰/۱۳۱ q-s	۰/۱۲۵ r-t
بغدادی	۰/۰۹۶ s-v	۰/۳۵۶ d-g	۰/۴۱۲ b-d	۰/۴۳۹ a-c	۰/۲۶۲ i-l	۰/۱۰۵ r-v	۰/۱۵۱ n-r	۰/۳۵۶ c-e	۰/۴۴۴ b	۰/۵۲۲ a	۰/۳۳۰ d-g	۰/۲۷۷ g-j
اردوبادی	۰/۰۸۹ s-v	۰/۲۲۱ f-i	۰/۱۴۸ p-s	۰/۱۲۷ q-v	۰/۰۶۷ v	۰/۰۵۲ t-v	۰/۱۴۱ p-r	۰/۲۹۶ f-h	۰/۱۵۲ m-r	۰/۱۴۲ p-r	۰/۱۱۷ r-t	۰/۰۶۹ t
همدانی	۰/۰۷۹ uv	۰/۲۶۱ i-l	۰/۲۰۶ l-p	۰/۱۱۸ q-v	۰/۰۹۸ s-v	۰/۰۷۸ uv	۰/۱۴۴ p-r	۰/۲۸۸ g-i	۰/۱۵۰ n-r	۰/۱۱۲ r-t	۰/۱۰۸ r-t	۰/۱۰۶ r-t
LSD (5%)	۰/۰۳۰						۰/۰۳۰					

هم‌بستگی بین صفات

در شرایط تنش خشکی هم‌بستگی منفی و معنی‌داری بین فعالیت همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام یونجه با محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید وجود داشت. هم‌چنین هم‌بستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با یکدیگر وجود داشت که نقش این آنزیم‌ها در کاهش آسیب‌های ناشی از وقوع تنش اکسیداتیو را مشخص نمود (جدول ۹).

گروه‌بندی ارقام

در این آزمایش از تجزیه خوشه‌ای و روش واریانس حداقل وارد برای گروه‌بندی کلی ارقام استفاده شد. گروه‌بندی بر اساس میانگین صفات بیوشیمیایی مورد ارزیابی در شرایط تنش در مقایسه با شرایط بدون تنش انجام شد. بر اساس این روش ارقام به چهار گروه شامل رقم متحمل به تنش خشکی (قمی)، ارقام نیمه مقاوم به تنش خشکی (شامل بغدادی، بمی و نیک‌شهری)، ارقام حساس به تنش خشکی (شامل یزدی وقره یونجه) و ارقام بسیار حساس به تنش خشکی (شامل اردوبادی، همدانی، کودی و اصفهانی تقسیم‌بندی شد.

نتیجه‌گیری

همه صفات بیوشیمیایی تحت تاثیر پتانسیل آب، رقم و اثر متقابل پتانسیل آب و رقم قرار گرفتند. با کاهش پتانسیل آب محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام یونجه افزایش یافت که البته به رقم و سطح پتانسیل آب بستگی داشت. نتایج بررسی هم‌بستگی بین صفات، نقش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش محتوای پراکسیدهیدروژن و به‌دنبال آن کاهش آسیب‌های وارد شده به غشاءسلولی را به خوبی مشخص نمود. همچنین مکانیسم آنزیمی مقاومت ارقام مورد مطالعه به تنش خشکی را مشخص ساخت. بر اساس میانگین صفات مورد ارزیابی در شرایط تنش خشکی در مقایسه با شرایط بدون تنش خشکی، رقم قمی به عنوان مقاوم‌ترین رقم به تنش خشکی تعیین شد و پس از آن به ترتیب ارقام بغدادی، بمی، نیک‌شهری، یزدی، قره یونجه، اردوبادی، همدانی، کودی و اصفهانی قرار دارند. نتایج نشان داد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش موثری در مقاومت به تنش خشکی در ارقام یونجه دارند و از این رو قابلیت استفاده به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی در تعیین مقاومت به تنش خشکی در ارقام یونجه را دارا هستند.

جدول ۹- ضرایب هم‌بستگی بین صفات مورد ارزیابی در ۱۰ رقم منتخب یونجه در پتانسیل آب صفر (همبستگی‌های با فونت نازک) و میانگین پتانسیل آب‌های ۰/۲-، ۰/۴-، ۰/۶-، ۰/۸- و ۱- مگاپاسکال (هم‌بستگی‌های با فونت ضخیم) در شرایط آزمایشگاهی

صفات	rH_2O_2	sH_2O_2	rMDA	sMDA	rCAT	sCAT	rPOX	sPOX	rAPX	sAPX
rH_2O_2	۱	۰/۳۱	۰/۶۰	۰/۲۴	-۰/۰۴	۰/۳۹	-۰/۴۱	-۰/۱۸	-۰/۶۱	-۰/۶۳
sH_2O_2	۰/۹۵**	۱	۰/۱۱	-۰/۴۸	۰/۰۱	۰/۰۴	-۰/۴۵	-۰/۴۲	-۰/۸۵**	-۰/۸۲**
rMDA	۰/۸۵**	۰/۸۲**	۱	۰/۵۱	۰/۱۱	۰/۱۱	-۰/۴۱	-۰/۱۰	-۰/۴۸	-۰/۴۸
sMDA	۰/۹۳**	۰/۹۳**	۰/۹۷**	۱	-۰/۱۷	-۰/۴۰	-۰/۳۲	۰/۲۵	۰/۰۹	۰/۰۸
rCAT	-۰/۸۷**	-۰/۹۵**	-۰/۷۲*	-۰/۸۵**	۱	۰/۴۵	۰/۳۸	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۰۸
sCAT	-۰/۸۶**	-۰/۹۳**	-۰/۷۹*	-۰/۸۹**	۰/۹۸**	۱	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۰۸	۰/۰۳
rPOX	-۰/۹۱**	-۰/۹۳**	-۰/۸۸**	-۰/۹۵**	۰/۹۲**	۰/۹۵**	۱	۰/۰۱	۰/۵۳	۰/۴۷
sPOX	-۰/۹۷**	-۰/۹۷**	-۰/۸۷**	-۰/۹۵**	۰/۸۸**	۰/۸۷**	۰/۸۹**	۱	۰/۴۵	۰/۵۷
rAPX	-۰/۹۵**	-۰/۹۸**	-۰/۸۱**	-۰/۹۲**	۰/۹۵**	۰/۹۲**	۰/۹۵**	۰/۹۴**	۱	۰/۱۸
sAPX	-۰/۹۶**	-۰/۹۷**	-۰/۸۰*	-۰/۹۲**	۰/۹۶**	۰/۹۴**	۰/۹۶**	۰/۹۴**	۰/۹۹**	۱

صفات به ترتیب شامل: محتوای پراکسید هیدروژن ریشه‌چه (rH2O2) و ساقه‌چه (sH2O2)؛ فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ریشه‌چه (rCAT) و ساقه‌چه (sCAT)؛ پراکسیداز ریشه‌چه (rPOX) و ساقه‌چه (sPOX)؛ آسکوربات پراکسیداز ریشه‌چه (rAPX) و ساقه‌چه (sAPX).

*و** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

References

[1]. Ahmad, P., & Parasad, M.N.V. (2012). Abiotic Stress Responses in Plants, Metabolism, Productivity and Sustainability (eds), Springer, New York.

[2]. Ahkondi, M., Safarnejad, A., & Lahooti, M. (2004). Evaluation of morphological indexes in drought tolerant cultivar selection (*Medicago sativa* L.) under osmotic stress (PEG). *Research and Construction,* 17(1), 50-57, (in Farsi).

[3]. Antolin, C.A., Muro, I., & Sánchez-Díaz, M. (2010). Application of sewage sludge improves growth, photosynthesis and antioxidant activities of nodulated alfalfa plants under drought conditions. *Environmental Experimental Botany,* 68, 75–82.

[4]. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology,* 55, 373-399.

[5]. Aranjuelo, I., Molero G., Gorka, E., Jean, C.A., & Salvador, No. (2011). Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of Experimental Botany,* 62(1), 111-123.

[6]. Azhdari, G.H., & Tavili, A. (2013). Comparing germination properties of Yazdi and Hamedani cultivars of Medicago sativa under drought and salinity stresses effects. *International Journal of Biology and Biological Sciences,* 2(8), 122-128.

[7]. Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Review in Plant Science,* 51, 241-36.

[8]. Bergmeyer, H.U. (1974). Method of enzymatic analysis, Second English edition. Academic Press, Inc, New York and London. 673-690.

[9]. Blum, A., & Ebercon, A. (1981). Cell membrane stability as measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science,* 21, 43-47.

[10]. Boyer, J.S. (1982). Plant productivity and environment. *Science,* 218(4571), 443-448.

[11]. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry,* 72, 248-254.

[12]. Dehshiri, A., Pakniat, H., & Mozafari, V. (2011). Effect of drought on antioxidant activity in canola. First National Conference in New Topics in Agriculture, Islamic Azad University, Sveh Unit.

[13]. Erice, G., Louahli, S., Irigoyen, J.J, Sanchez-Diaz, M., & Avice, J.C. (2010). Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *Journal of Plant Physiology,* 167, 114-120.

[14]. Esfandiari, A., Shakiba, M., Mahboobi, S., Alyari, H., & Baradaran-e- Firoozabadi, M. (2009). Effect of drought on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation of

wheat. *Agricultural Science Journal,* 19(2), 129-138.

[15]. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronnomy for Sustainable Development,* 29, 185–212.

[16]. Foyer, C.H., Descourvières, P., & Kunert K.J. (1994). Protection against radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell & Environment,* 17, 507–523.

[17]. Fu. J., & Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany,* 45, 105–114.

[18]. Ghaderifar, F., Galeshi, S., & Ahmadi, A. (2010). Effects of drought on germination and growth of 9 clover (*Trifolium subterraneum* L.) cultivars. *Iranian Agricultural Research Journal,* 8(1), 61-68, (in Farsi).

[19]. Gill, S.S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem,* 48, 909-930.

[20]. Hamidi, H., & Safarnejad, A. (2010). Effect of drought stress on alfalfa cultivars (*Medicago sativa* L.) in germination stage. *American and Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences,* 8(6), 705-709.

[21]. Hanson, C.H. (1972). Alfalfa science and technology. *American society of agronomy,* 13, 812-830.

[22]. Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 125, 189–198.

[23]. Herzog, V., & Fahimi, H., (1973). Determination of the activity of peroxidase. *Analytical Biochemistry,* 55, 554–562.

[24]. Imlay, J.A. (2003). Pathways of oxidative damage. *Annual Review of Microbiology,* 57, 395–418.

[25]. Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, J., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agronomy and Biology,* 11(1), 100-105.

[26]. Kadkhodaie, A., Razmjoo, J., Zahedi, M., & Pessarakli, M. (2014). Selecting sesame genotypes for drought tolerance based on some physiochemical traits. *Agronomy Journal,* 106(1), 111-118.

[27]. Kramer, P.J., & Boyer, J.S. (1997). Water relations of plants and soils. Academic Press, San Diego, California.

[28]. Li, W.R., Zhang, S.Q., Ding, S.Y., & Shan, L. (2010). Root morphological variation and water use in alfalfa under drought stress. *Acta Ecologia Sinica,* 30(19) 5140-5150.

[29]. Lum. M.S., Hanafi, M.M., Rafii, Y.M. & Akmar, A.S.N. (2014). Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. *The Journal of Animal and Plant Science,* 24(5), 1487-1493.

[30]. Mahmoodi, A., Barani, H., Soltani, A., & Sepehri, A. (2008). Effect of drought on annual alfalfa (Medicago scutellata Mill) germination. *Grassland Scientific and Research Journal,* 2(2), 124-133, (in Farsi).

[31]. Michaud, R., Lehman, W.F., & Rumbaugh, M.D. (1988). World distribution and historical development. In: Hanson, A.A., Barnes, D.K., & Hill, R.R., (eds), Alfalfa and alfalfa improvement, ASA, Madison/WI, 25–91.

[32]. Michel, B.E., & Kaufmann, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology,* 51, 914-916.

[33]. Mittler, R, 2002, "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance". *Trends in plant Science,* 7, 405–410.

[34]. Moller, I.M., Jensen, P.E., & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology,* 58, 459–481.

[35]. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiology,* 22, 867–880.

[36]. Nasr Esfahani, M. (2013). Effect of dry stress on growth and antioxidant system in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Journal of Plant Biology,* 5(15), 111-124.

[37]. Okcu, G., Kaya, M.D., & Atak, M., (2005). Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea

(*Pisum sativum* L.). *Turkish Journal of Agriculture & Forestry,* 29, 237-242.
[38]. Orloff, S.B., & Carlson H.L. (1997). Intermountain alfalfa management, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 3366.
[39]. Safarnejad, A. (2008). Morphological and biochemical response to osmotic stress in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Pakistanian Journal of Bottany,* 40(2), 735-746.
[40]. Smirnoff, N., & Colombe, S.V. (1988). Drought influences the activity of the chloroplast hydrogen peroxide scavenging system. *Journal of Experimental Botany,* 39, 1097-1108.
[41]. Sunkar, R. (2010). Plant stress tolerance methods and protocols, Humana Press.
[42]. Velikov, V., Yordanov, I., & Edrev, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science,* 151(1), 59-66.
[43]. Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P., & Kwak. S.S. (2009). Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry,* 47, 570–577.

Effect of drought on biochemical properties of root and shoot of alfalfa cultivars (*Medicago sativa* L.)

1-M. Maghsoodi, Ph.D Student, Department of Agriculture, Isfahan University of Technology
2-J. Razmjoo, Professor, Department of Agriculture, Isfahan University of Technology
krazmjoo@cc.iut.ac.ir
3-M. Gheysari, Assistant Professor, Department of Agriculture, Isfahan University of Technology

Received: 15 May 2015
Accepted: 13 Apr 2016

Abstract

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is the most important forage crap in the world and is widely cultivated especially, in arid and semi-arid regions. Because of it's widely distribution, alfalfa has developed different morphological, physiological, and biochemical mechanisms across environmental stresses, especially drought. Thus, this experiment was conducted to determine catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and peroxidase (POX) activities, hydrogenperoxide, and malondialdehyde (MDA) contentsof roots and shoots of ten alfalfa cultivars (Qomi, Isfahani, Hamedani, Bami, Ordobadi, Gharayonje, Nikshahri, Yazdi, Baghdadi and Cody) under sixwater potential (0, -0.2, -0.4, -0.6, -0.8 and -1MP) during germination.Drought stress increased CAT, APX and POX activities, hydrogen peroxide, and MDA contents, in both root and shoot, however such alterations were cultivar-drought level-specific.According to the correlation between measured traits at drought condition, antioxidant enzymes activity in roots and shoots had negative and significant correlation with hydrogen peroxide and MDA contents of both root and shoot. Cultivars with higher enzyme activities had lower hydrogen peroxide and MDA contents (Qomi, Baghdadi, Nikshahri and Bami), while cultivars with lower enzyme activities and higher hydrogen peroxide and MDA content (Isfahani, Ordobadi and Hamedani), suggesting that tolerant cultivars may have retained sufficient water and had active enzymatic defense systems against oxidative injury, moreover, antioxidant enzymes activity can be used as biochemical indicator for drought tolerance in alfalfa cultivars.

Keywords: Alfalfa; Drought; Antioxidant; Malondialdehide; Hydrogen peroxide.