

مقاله پژوهشی

روش‌های موثر بر بهبود جوانه‌زنی یونجه یکساله (*Medicago scutellata*) تحت تأثیر

تنش‌های شوری و خشکی

سعید شرفی

چکیده مبسوط

مقدمه: جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه از اولین مراحل رشد گیاهان زراعی است که به تنش‌های شوری و خشکی حساسیت بالایی دارند. از طرف دیگر سختی بذر بر کیفیت جوانه‌زنی گیاهان تأثیر می‌گذارد. هدف این مطالعه بررسی تأثیر روش‌های پیش‌تیماردهی بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی یونجه یکساله بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تأثیر روش‌های آماده‌سازی خراش‌دهی (سنباد، چاقو و ماسه)، سرمادهی (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵-درجه سلسیوس)، امواج فراصوت (۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ دقیقه) و میدان مغناطیسی (در دو سطح ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌تسلا و در زمان‌های ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت) بر جوانه‌زنی یونجه یکساله در آزمایش‌های جداگانه تحت تأثیر سطوح تنش‌های شوری و خشکی (۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲-بار) بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی گردید. تعداد ۲۰ بذر در هر پتری برای هر تیمار استفاده شد. گیاهچه‌ها در اتاقک رشد و در دمای $20/18 \pm 3$ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از ده روز وزن خشک گیاهچه بعد از قرارگیری در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس توزین شد. طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی، سرعت رشد گیاهچه، وزن ذخایر پویا شده، درصد تخلیه ذخایر بذر و راندمان پویایی ذخایر بذر اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: بر اساس نتایج اولیه و با استفاده از روش تاگوچی، تیمارهای سرمادهی ۱۵-درجه سلسیوس در هر دو تنش شوری و خشکی؛ تیمار ۶ و ۹ دقیقه قرار گرفتن در معرض امواج فراصوت در آزمایش تنش شوری خشکی؛ و شدت میدان مغناطیسی ۲۵۰ میلی‌تسلا به مدت ۶ و ۹ ساعت به ترتیب در بررسی اثر تنش شوری و خشکی انتخاب شدند. در آزمایش تنش شوری بیشترین طول ریشه‌چه (۲۳/۴۷ میلی‌متر)، طول ساقه‌چه (۱۵/۷۶ میلی‌متر)، وزن ذخایر پویا شده (۰/۱۱۹ میلی‌گرم در بذر) و درصد تخلیه ذخایر بذر (۵۸/۹ درصد) در تیمار خراش‌دهی، بیشترین درصد جوانه‌زنی (۴۷/۲ درصد) در تیمار شاهد، بیشترین وزن خشک گیاهچه (۰/۱۹۵ میلی‌گرم) در تیمار میدان مغناطیسی و بیشترین راندمان پویایی ذخایر بذر (۰/۶۶۵ میلی‌گرم بر میلی‌گرم در بذر) در تیمار فراصوت مشاهده گردید. در آزمایش تنش خشکی بیشترین طول ریشه‌چه (۲۲/۸۴ میلی‌متر)، طول ساقه‌چه (۸/۰۹ میلی‌متر)، درصد جوانه‌زنی (۴۹/۹ درصد)، وزن ذخایر پویا شده بذر (۰/۰۹۶ میلی‌گرم در بذر) و درصد تخلیه ذخایر بذر (۴۳/۱ درصد) در تیمار فراصوت، بیشترین وزن خشک گیاهچه (۰/۰۹ میلی‌گرم) در تیمار میدان مغناطیسی و بیشترین راندمان پویایی ذخایر بذر (۵۱/۶ میلی‌گرم بر میلی‌گرم بذر) در تیمار شاهد مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج رابطه مستقیمی بین کاهش وزن خشک گیاهچه و کاهش پویایی ذخایر بذر وجود دارد، اما دو تیمار خراش‌دهی و امواج فراصوت به ترتیب در مقاومت گیاهچه‌ها به تنش شوری و خشکی تأثیر معنی‌داری داشتند. همچنین مشخص گردید که، استفاده از امواج فراصوت و خراش‌دهی درصد جوانه‌زنی را افزایش داد. بنابراین گیاهچه‌های قوی‌تر تولید شده، که مقاومت بیشتری در مقابل تنش‌های شوری و خشکی نشان دادند. تفاوت بین تیمارها در قالب جوانه‌زنی و رشد گیاهچه همزمان با افزایش شدت تنش، افزایش یافت. این ویژگی‌ها منجر به افزایش پویایی ذخایر بذر گردید. همچنین روش‌های پیش‌تیماردهی باعث افزایش طول کوتیلدون و تقویت بنیه گیاهچه گردیدند. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌بایست مطالعات بیشتری در رابطه با فعالیت آنزیم‌ها و یا هورمون‌های موثر بر پویایی ذخایر بذر در مواجهه با تنش‌های شوری و خشکی صورت پذیرد.

واژه‌های کلیدی: امواج فراصوت، پتانسیل اسمزی، خراش‌دهی، روش تاگوچی، سرمادهی، میدان مغناطیسی

جنبه‌های نوآوری:

- ۱- حساس‌ترین مرحله رشد گیاه یونجه یکساله (مرحله تولید گیاهچه) نسبت به تنش‌های شوری و خشکی ارزیابی شد.
- ۲- پیش‌تیمارهای مختلف برای بهبود جوانه‌زنی یونجه یکساله جهت ورود به تناوب زراعی در مناطق خشک و نیمه‌خشک با توجه به خودبذر بودن و کوتاه بودن دوره رشد آن بررسی شد.



مقدمه

تغییرات اقلیمی شامل؛ افزایش درجه حرارت، وقوع خشکسالی و نوسانات اقلیمی به‌ویژه در اراضی مناطق خشک و نیمه‌خشک جوانه‌زنی و ادامه بقای گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (چیزمن^۱، ۲۰۱۶)، بنابراین تنش‌های محیطی از عوامل مهم در کاهش رشد و نمو گیاهان بوده و در نهایت کمیت و کیفیت عملکرد آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (فائو^۲، ۲۰۱۵) و با توجه به اینکه بخش زیادی از کشور ایران در اقلیم خشک و نیمه‌خشک قرار دارد (شرفی^۳ و همکاران، ۲۰۱۶)، در نتیجه تحقیق در رابطه با یافتن گیاهان مقاوم در مقابل این تنش‌ها باید در اولویت قرار گیرد. امروزه علیرغم جایگاه مهم یونجه یکساله در برنامه تناوبی مناطق خشک (شعبانی^۴ و همکاران، ۲۰۱۴)، عکس‌العمل رشدی آن به عوامل مدیریتی مختلف به‌صورت همزمان بررسی نشده است. به‌عبارت دیگر از یک سو مشکلات گیاهان جهت شکستن دوره رکود و از سوی دیگر مقابله با عوامل محیطی (تنش‌های) زنده و غیرزنده نیازمند مدیریت علمی می‌باشد. از جمله روش‌های سنتی در از بین بردن سختی بذر گیاهان زراعی استفاده از روش‌های فیزیکی مانند خراش‌دهی و سرمادهی می‌باشد. بذر گیاهان زراعی نسبت به عوامل فیزیکی جهت شکستن رکود واکنش بهتری را نشان می‌دهند، اما در مقابله با شرایط وقوع تنش خشکی و شوری و به‌ویژه تنش شوری ممکن است آسیب ببینند (قمری زارع^۵، ۲۰۱۰؛ محمودی^۶ و همکاران، ۲۰۱۰)

در بیشتر مطالعات انجام شده تأثیر میدان مغناطیسی بر سیستم‌های زنده به‌ویژه تأثیر آن در کاهش اثر تنش شوری و خشکی بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه تأیید شده است. در زمینه تأثیر میدان مغناطیسی بر ویژگی‌های جوانه‌زنی غلات و به‌ویژه گندم محققان زیادی تحقیق کرده‌اند (برتولدسون و تونسون^۷،

۲۰۰۵؛ وو^۸، ۲۰۰۵؛ غلامی^۹ و همکاران، ۲۰۱۰b). بر اساس نتایج غلامی و همکاران (۲۰۱۰) قرار گرفتن بذر گندم به مدت ۶ ساعت در شدت میدان ۲۵۰ میلی‌تسلا وزن خشک گیاهچه در مقایسه با تیمار شاهد افزایش نشان داد و بیشترین ذخایر پویا شده بذر در این شرایط و در تیمار ۳- مگاپاسکال از سطوح شوری و خشکی حاصل گردید (غلامی و همکاران، ۲۰۱۰a). همچنین در مطالعه شرفی و همکاران (۲۰۱۲) مشخص گردید که صفات پویایی ذخایر بذر و درصد تخلیه ذخایر بذر جو و یونجه یکساله در مقایسه با بذر گندم، کلزا و ذرت در شدت میدان مغناطیسی ۱۲۰ میلی‌تسلا و زمان ۱۲ ساعت نسبت به شوری و خشکی (۲- مگاپاسکال) مقاومت بیشتری را نشان دادند.

تأثیر امواج فراصوت در افزایش بنیه جوانه‌زنی گیاهان زراعی و دارویی توسط محققین تأیید شده است (فاریابی^{۱۰} و همکاران، ۲۰۰۸؛ الوندیان^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۳؛ سالمی‌نسب^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۷). مهمترین اثر امواج فراصوت بر افزایش بنیه بذر و تأثیر بر ایجاد ریشه‌های قوی‌تر در مقایسه با گیاهان بدون اعمال تیمار مذکور می‌باشد، بنابراین می‌تواند اثرات تنش‌های خشکی و شوری را بر گیاهچه (الوندیان و همکاران، ۲۰۱۳) و در مراحل بعدی رشد و نمو گیاهان (سالمی‌نسب و همکاران، ۲۰۱۷) به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. بنابراین هدف از این تحقیق (۱) بررسی قدرت جوانه‌زنی بذر یونجه یکساله در روش‌های مختلف پیش‌تیماردهی شامل؛ خراش‌دهی، سرمادهی، امواج فراصوت و میدان مغناطیسی و (۲) ارزیابی مقاومت گیاهچه‌ها در مقابل تنش‌های شوری و خشکی بود که منجر به یکنواختی رشد و نمو گیاهان و در نتیجه بهبود عملکرد، کوتاه‌تر نمودن زمان از کاشت تا سبز شدن محصول و محافظت بذرها در مقابل عوامل زنده و غیرزنده در طول مرحله استقرار گیاهچه‌ها می‌شود.

⁸ Wu⁹ Gholami¹⁰ Fariabi¹¹ Alvandian¹² Salemi Nasab¹ Cheeseman² FAO³ Sharafi⁴ Shabani⁵ Ghamari Zare⁶ Mahmudi⁷ Bertholdsson and Tuveesson

ذخایر پویا شده به بافت گیاهی نیز از تقسیم وزن خشک گیاهچه بر وزن ذخایر پویا شده بذر و همچنین نسبت ذخایر پویا شده بذر به وزن اولیه بذر به عنوان درصد تخلیه ذخایر بذر^۶ در نظر گرفته شد (سلطانی^۷ و همکاران، ۲۰۰۶).



شکل ۱. شکل A) نحوه قرارگیری بذر در میدان مغناطیسی و شکل B) حمام پرتودهی (Digitaltrasonic فراصوت مدل CD-4820) را نشان می‌دهد.

Fig.1. Part A shows the way the seeds are influenced by magnetic field and part B shows ultrasonic device.

همچنین طول ریشه‌چه (میلی‌متر)، ساقه‌چه (میلی‌متر)، درصد جوانه‌زنی نیز گزارش گردید. در آزمایش تأثیر خراش‌دهی بر جوانه‌زنی و مشخصات گیاهچه، بذر را با استفاده از سنباده، چاقو و ماسه خراش داده و در آزمایش تیمار سرمادهی نیز هر یک از دسته‌های بذر به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت‌های ۰، ۵-، ۱۰- و ۱۵- درجه سلسیوس قرار گرفتند.

در آزمایش اعمال تیمار فراصوت، بذر را به مدت ۶ ساعت در آب (جهت آغاز فرآیندهای فیزیولوژیک جوانه‌زنی) قرار گرفتند، سپس از حمام پرتودهی^۸ با فرکانس ثابت ۳۵ کیلوهرتز استفاده شد. بذر را به مدت ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ دقیقه در آب مقطر تحت امواج فراصوت قرار گرفته (سالمی نسب و همکاران، ۲۰۱۷)،

مواد و روش‌ها

بذر گیاه یونجه یکساله (Var Rabinson *Medicago scutellata*) از کشت سال قبل، در شرایط آب و هوایی شهرستان اراک و مزرعه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک جمع‌آوری گردید. سپس بذرهای سالم و هم‌اندازه جهت اعمال تیمارهای آزمایش شامل؛ خراش‌دهی (سنباده، چاقو و ماسه)، سرمادهی (۰، ۵-، ۱۰- و ۱۵- درجه سلسیوس)، امواج فراصوت (۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ دقیقه) و میدان مغناطیسی (در دو سطح ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌تسلا و در زمان‌های ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت) (شکل ۱) تحت تأثیر سطوح مختلف شوری (۰، ۳-، ۶-، ۹- و ۱۲- بار) با استفاده از نمک طعام و بر طبق معادلات وان‌هوف (سالیبوری و رز^۱، ۱۹۹۶) و خشکی (۰، ۳-، ۶-، ۹- و ۱۲- بار) با استفاده از پلی اتیلن گلیکول مورد استفاده قرار گرفتند (میشل و کافمن^۲، ۱۹۷۳).

هر یک از آزمایش‌های مذکور به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در اتاقک رشد (در شرایط تاریکی) آزمایشگاه فن‌آوری بذر دانشگاه اراک انجام شد. متوسط دمای محل آزمایش در روز $20 \pm 1^\circ\text{C}$ و در شب $18 \pm 1^\circ\text{C}$ بود. تعداد ۲۰ بذر در هر پتری کشت گردید. جوانه‌زنی بذر را در پتری‌های ۹ سانتی‌متری و با کاغذ واتمن شماره یک صورت گرفت. جهت تعیین محتوی رطوبت بذر تعداد ۲۰ بذر (رابطه ۱) در ۴ تکرار وزن شدند (w_1) سپس به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۱۰۴ درجه سلسیوس خشک شده و مجدداً وزن شدند (w_2):

$$\text{رابطه ۱: } \left(\frac{w_1 - w_2}{w_2} \right) \times 100 = \text{درصد رطوبت بذر}$$

مقدار عددی وزن خشک اولیه بذر یونجه یکساله $22/0 \pm 18/3$ میلی‌گرم در بذر بود. درصد جوانه‌زنی ۷ روز و وزن خشک گیاهچه^۳ ۱۰ روز پس از کاشت اندازه‌گیری شد (نظری^۴ و همکاران، ۲۰۱۴).

وزن ذخایر پویا شده بذر^۵ با کسر وزن خشک باقی‌مانده بذر از وزن اولیه بذر حاصل شد. راندمان تبدیل

¹ Salisbury and Rose

² Michel and Kaufman

³ Seedling Dry Weight (SLDW)

⁴ Nazari

⁵ Weight Mobilized Seed Reserve (WMSR)

⁶ Seed Reserve Depletion Percentage (SRDP)

⁷ Soltani

⁸ DigitaltrasonicCD-4820model

قرار گرفته و سپس با استفاده از روش آماری کسری از فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای روش فاکتوریل کامل از نرم‌افزار ساس^۳ و برای روش کسری از فاکتوریل از نرم‌افزارهای کوالی‌تک^۴ و مینی‌تب^۵ استفاده شد. همچنین مقایسه میانگین صفات مورد نظر با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس برای آزمایش در شرایط شوری (جدول ۱)، روش‌های مختلف پیش‌تیماردی برای صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، وزن ذخایر پویا شده و درصد تخلیه ذخایر بذر در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر سطوح مختلف شوری بر صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، وزن ذخایر پویا شده، راندمان پویایی ذخایر بذر و درصد تخلیه ذخایر بذر در سطح یک درصد معنی‌دار بود. سلطانی و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایشی روی گندم دریافتند، که کاهش وزن خشک گیاهچه در نتیجه کاهش پویایی ذخایر بذر به بافت‌های گیاهچه بوده و راندمان تبدیل ذخایر نقش مهمی ندارد. همچنین بر اساس نتایج عباسی و عبدالی^۶ (۲۰۱۷) غلظت بالای نمک در بسیاری از گیاهان سمی است، در بسیاری از گیاهان ثابت شده که تنش شوری سبب کاهش معنی‌داری در شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهان گندم، گوجه‌فرنگی، جو و سورگوم می‌گردد. برهم‌کنش روش‌های پیش‌تیماردی در شوری برای صفات طول ساقه‌چه، وزن ذخایر پویا شده و درصد تخلیه ذخایر بذر در سطح یک درصد و برای صفات طول ریشه‌چه، درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).

سپس آن‌ها را از آب مقطر خارج نموده و جهت کاشت در پتری‌دیش آماده شدند. شدت میدان مغناطیسی که خود شامل: دو میدان ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌تسلا (به‌ترتیب آهن‌رباهایی با مشخصات؛ قطر بیرونی ۷۰ میلی‌متر، قطر داخلی ۳۰ میلی‌متر و ضخامت ۱۰ و ۱۵ میلی‌متر) و مدت زمان قرار گیری در میدان مغناطیسی ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت بود (شرفی و همکاران، ۲۰۰۸؛ ۲۰۱۰؛ ۲۰۱۲؛ غلامی و همکاران، ۲۰۱۰b؛ سلطانی و همکاران، ۲۰۰۶). جهت اجرای آزمایش بذر را درون کاغذ صافی داخل آهن‌ربا قرار داده شدند. آهن‌ربا طوری روی لیوان قرار داده شد که قطب شمال آن به سمت بالا و قطب جنوب آن به سمت پایین بود. فاصله آهن‌رباها از هم ۲۵ سانتی‌متر بود (شکل ۱). پس از اعمال مدت زمان تعیین شده برای هر تیمار کاغذ صافی از آهن‌ربا خارج و به پتری منتقل گردید.

جهت شناسایی تیمارهای برتر از روش تاگوچی استفاده شد (شرفی و همکاران، ۲۰۰۸). روش تاگوچی ترکیبی از تکنیک‌های آماری و ریاضی و استفاده از آن‌ها در مطالعات تجربی می‌باشد. در روش‌های متداول انجام آزمایش مانند فاکتوریل کامل و یا یک فاکتور در زمان نیاز به صرف زمان و هزینه‌های زیادی برای دستیابی به نتایج می‌باشد. به‌علاوه این روش‌ها قادر به بررسی برهم‌کنش عوامل با یکدیگر و اثر آن‌ها بر پاسخ آزمایش نمی‌باشند (موهان^۱ و همکاران، ۲۰۰۷)، ولیکن روش تاگوچی قادر به تعیین اثر عوامل فرایندی بر پاسخ و مقدار بهینه هریک می‌باشد (پراساد^۲ و همکاران، ۲۰۰۵). در این پژوهش، از طراحی آرایه‌های متعامد تاگوچی برای تعیین شرایط بهینه و انتخاب عواملی که اثر بیشتری بر طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه گیاهچه‌های یونجه یکساله داشتند، استفاده شد. در نهایت بهترین نتایج حاصل از بررسی اثرات روش‌های خراش‌دهی (با سنباده)، سرمادهی (۱۵- درجه سلسیوس)، امواج فراصوت (۶ دقیقه) و میدان مغناطیسی (شدت میدان ۲۵۰ میلی‌تسلا و به مدت ۶ ساعت) انتخاب و در آزمایش جداگانه‌ای بعد از اعمال تیمارها تحت تأثیر تنش‌های شوری و خشکی (۰، -۳، -۶، -۹ و -۱۲ بار)

³ SAS/9.3

⁴ Qualitek4 (Nutek Inc.)

⁵ Minitab (Minitab, Inc.)

⁶ Abbasi Bidli and Abdali Mashhadi

¹ Mohan

² Prasad

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس روش‌های پیش‌ تیماردهی بر صفات جوانه‌زنی یونجه یکساله تحت تأثیر تنش‌های شوری و خشکی

Table 1. The results of ANOVA testing for pre-treatment methods on seed germination of annual medic affected by salinity and drought stresses.

منابع تغییر SOV	درجه آزادی d.f	طول ریشه‌چه Root length	طول ساقه‌چه Shoot length	درصد جوانه‌زنی Seed germination	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	وزن ذخایر پویا شده weight of mobilized seed reserves	راندمان پویایی ذخایر بذر seed reserve mobilization efficiency	درصد تخلیه ذخایر بذر seed reserve depletion percentage
تنش شوری (Salinity Stress)								
پیش‌ تیماردهی Pre-treatment	4	660 **	339 **	2412**	0.081 **	0.013**	0.375 ^{n.s}	0.319**
شوری Salinity	4	6334**	1698 **	19397**	0.087 **	0.018**	1.82**	0.431**
پیش‌ تیماردهی×شوری P×S	16	281 *	127**	628*	0.022 *	0.002**	0.268 ^{n.s}	0.058**
خطا Error	50	155	38	325	0.01	0.001	0.256	0.024
ضریب تغییرات CV%	-	13.43	7.56	15.56	19.53	17.2	13.85	16.98
تنش خشکی (Drought Stress)								
پیش‌ تیماردهی Pre-treatment	4	637 **	102*	1882**	0.013 *	0.005 ^{n.s}	0.235 ^{n.s}	0.117 ^{n.s}
خشکی Drought	4	4202 **	694**	19573**	0.029 **	0.07**	0.913**	1.65**
پیش‌ تیماردهی×خشکی P×D	16	285*	45 *	757*	0.004 ^{n.s}	0.011 ^{n.s}	0.165 ^{n.s}	0.271 ^{n.s}
خطا Error	50	124	28	562	0.003	0.012	0.127	0.258
ضریب تغییرات CV%	-	8.57	15.05	16.92	16.09	14.79	13.99	11.06

n.s: not significant; * and ** represent significant difference at $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively.

لپه‌ها موجب هیدرولیز مواد ذخیره‌ای می‌شود (حمید^۱ و همکاران، ۲۰۱۰).

اثر سطوح خشکی بر صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، وزن ذخایر پویا شده، راندمان پویایی ذخایر بذر و درصد تخلیه ذخایر بذر در سطح یک درصد معنی‌دار شد. همچنین برهم‌کنش روش‌های پیش‌ تیماردهی در خشکی برای صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس برای آزمایش در شرایط تنش خشکی (جدول ۱)، تأثیر روش‌های مختلف پیش‌ تیماردهی بذر بر صفات طول ریشه‌چه و درصد جوانه‌زنی در سطح یک درصد و صفات طول ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. بهبود جوانه‌زنی رابطه مستقیمی با تحریک فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک، سنتر پروتئین و کل قندهای محلول دارد. بنابراین پس از اعمال پیش‌ تیماردهی، هورمون جیبرلین از جنین ترشح شده و پس از ورود به

¹ Hameed

قدر پویایی ذخایر بذر بیشتر باشد درصد بیشتری از ذخایر بذر صرف تولید بافت‌های گیاهی خواهد شد (۵۸/۹ درصد ذخایر بذر در تیمار خراش‌دهی جهت تولید بافت‌های جدید، تخلیه شد). همچنین بیشترین راندمان پویایی ذخایر بذر در تیمار فراصوت (۰/۶۶۵ میلی گرم بر میلی گرم بذر) به دست آمد، که ۵۰ درصد بیش از تیمارهای شاهد (۰/۳۲۲ میلی گرم بر میلی گرم بذر) و میدان مغناطیسی (۰/۳۲۶ میلی گرم بر میلی گرم بذر) بود (جدول ۲). در آزمایش تنش خشکی شرایط متفاوت‌تر از آزمایش تنش شوری بود. همان‌طور که در جدول ۲، نیز مشاهده می‌گردد؛ بیشترین طول ریشه‌چه (۲۲/۸۴ میلی متر)، طول ساقه‌چه (۸/۰۹ میلی متر) و درصد جوانه‌زنی (۴۹/۹ درصد) در تیمار فراصوت مشاهده گردید. بر اساس نتایج سالمی نسب و همکاران (۲۰۱۷) اعمال تیمار فراصوت بر صفات مذکور و به‌ویژه درصد جوانه‌زنی بذر گیاهان زراعی و دارویی تحت تنش خشکی تأثیر مستقیم دارد. همچنین بیشترین وزن خشک گیاهچه نیز به مانند آزمایش تنش شوری در اثر میدان مغناطیسی (۰/۹ میلی گرم) مشاهده شد که بیش از سه برابر تیمار امواج فراصوت (۰/۲۵ میلی گرم) بود (جدول ۲).

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها برای روش‌های پیش‌تیماردهی در آزمایش تنش شوری (جدول ۲)، مشخص گردید، که بیشترین طول ریشه‌چه مربوط به تیمار خراش‌دهی (۲۳/۴۷ میلی متر) بود و در مقایسه با تیمار شاهد (۱۶/۷۲ میلی متر) ۲۸/۷۶ درصد افزایش داشته است. همچنین طول ریشه‌چه در تیمارهای امواج فراصوت (۱۸/۷۹ میلی متر) و میدان مغناطیسی (۱۹/۶۲ میلی متر) نیز بیشتر از تیمار شاهد گزارش گردید. بیشترین طول ساقه‌چه نیز در تیمار خراش‌دهی (۱۵/۷۶ میلی متر) مشاهده شد، که ۴۹/۱۱ درصد با تیمار شاهد (۸/۰۲ میلی متر) اختلاف داشت. بیشترین درصد جوانه‌زنی به‌ترتیب در تیمارهای شاهد (۴۷/۲ درصد) و خراش‌دهی (۴۴ درصد) مشاهده گردید. با توجه به حساسیت بذر یونجه یکساله به سرما، که در مقایسه با سایر تیمارها طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی به‌شدت کاهش یافته بود و در مقایسه با تیمار شاهد اثرات منفی نیز بر صفات مورد بررسی داشت. سرمادهی با تحریک تولید اکسیژن فعال سبب اختلال در جریان انتقال الکترون‌ها در فرآیند سوخت‌وساز شده و منجر به آسیب رساندن به غشاهای سلولی و تجمع ترکیبات تیوبیتوریک اسید^۱ همراه با پراکسیداسیون چربی می‌گردد. بنابراین پایین بودن دما طی فرآیند جذب آب استحکام غشاء را از بین برده، نشت الکترولیت‌ها را افزایش داده و مانع جوانه‌زنی مطلوب می‌گردد (یوسفی‌تنها^۲ و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین مشخص شد که، وزن خشک گیاهچه‌های تولیدی در تیمار میدان مغناطیسی (۰/۱۹۵ میلی گرم) به‌ترتیب ۳ و ۶ برابر تیمارهای امواج فراصوت (۰/۰۶۲ میلی گرم) و شاهد (۰/۰۲۹ میلی گرم) گزارش شد (جدول ۲).

بر اساس نتایج جدول ۲، در آزمایش تنش شوری وزن ذخایر پویا شده بذر رابطه مستقیمی با طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه دارد، بنابراین بیشترین وزن ذخایر پویا شده بذر نیز در تیمار خراش‌دهی (۰/۱۱۹ میلی گرم در بذر) مشاهده شد. از طرف دیگر افزایش ذخایر پویا شده رابطه مستقیمی نیز با درصد تخلیه ذخایر بذر نیز دارد (شرفی و همکاران، ۲۰۱۲)، یعنی هر

^۱ Thiobitturic acid^۲ Yousefi Tanha

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های روش‌های مختلف پیش‌تیماردهی بر جوانه‌زنی یونجه یکساله تحت تأثیر شوری و خشکی

Table 2. The means comparison of pre-treatment methods on seed germination of annual medic affected by salinity and drought stresses

تیمارها Treatments	طول ریشه‌چه Root length (mm)	طول ساقه‌چه Shoot length (mm)	درصد جوانه‌زنی Seed germination	وزن خشک گیاه‌چه Seedling dry weight (mg)	وزن ذخایر پویا شده Weight of mobilized seed reserves (mg.seed ⁻¹)	راندمان پویایی ذخایر بذر Seed reserve mobilization efficiency (mg.mg seed ⁻¹)	درصد تخلیه ذخایر بذر Seed reserve depletion percentage
تنش شوری (Salinity Stress)							
شاهد Control	16.72 c	8.02 b	47.2 a	0.029 c	0.049 b	0.322 b	24.3 b
خراش‌دهی Scarification	23.47 a	15.76 a	44.0 ab	0.038 bc	0.119 a	0.252 bc	58.9 a
سرمادهی Stratification	5.92 d	2.36 c	32.2 c	0.014 d	0.052 b	0.332 b	26 b
فراصوت Ultrasonic	18.79 bc	8.93 b	39.6 b	0.062 b	0.06 b	0.665 a	29.4 b
میدان مغناطیسی Magnetic Field	19.62 b	8.86 b	33.1 c	0.195 a	0.053 b	0.326 b	26.4 b
تنش خشکی (Drought Stress)							
شاهد Control	13.06 bc	4.51 b	39.6 b	0.029 bc	0.089 ab	0.516 a	43.7 ab
خراش‌دهی Scarification	16.45 b	6.77 ab	36.7 bc	0.04 b	0.069 bc	0.269 b	33.9 c
سرمادهی Stratification	5.43 d	1.2 c	31.7 c	0.015 d	0.052 c	0.174 c	25.6 d
فراصوت Ultrasonic	22.84 a	8.09 a	49.9 a	0.25 c	0.096 a	0.307 b	47.3 a
میدان مغناطیسی Magnetic Field	10.53 c	4.88 b	19.3 d	0.9 a	0.074 b	0.3 b	43.1 ab

میانگین‌های دارای حروف مشابه در یک ستون در سطح خطای کمتر از ۰/۰۵ آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری با همدیگر نیستند.

The means with similar letters in each column have no significant difference according to Duncan's multiple range test at $P \leq 0.05$.

میلی گرم بذر)، خراش‌دهی (۰/۲۷ میلی گرم بر میلی گرم بذر) و سرمادهی (۰/۱۷۴ میلی گرم بر میلی گرم بذر) در رده‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۲). بر طبق نتایج به‌دست آمده در این بخش، مشخص گردید که ارتباط مستقیمی بین راندمان پویایی ذخایر و ذخایر بذر وجود دارد (سلطانی و همکاران، ۲۰۰۶).

با توجه به نتایج جدول ۳، در تیمار شاهد با افزایش سطوح شوری و خشکی طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی کاهش یافت، ولیکن تأثیر سطوح تنش

به مانند آزمایش تنش شوری، در آزمایش تنش خشکی نیز وزن ذخایر پویا شده ارتباط مستقیمی با درصد تخلیه ذخایر بذر نشان داد، بنابراین میانگین راندمان پویایی ذخایر بذر و درصد تخلیه ذخایر بذر در تیمار فراصوت مشاهده شد (به ترتیب ۰/۰۹۶ میلی گرم بر بذر و ۴۷/۳ درصد)، اما بیشترین پویایی ذخایر بذر در تیمار شاهد (۰/۵۱۶ میلی گرم بر میلی گرم بذر) به‌دست آمد و تیمارهای امواج فراصوت (۰/۳۰۷ میلی گرم بر میلی گرم بذر)، میدان مغناطیسی (۰/۳ میلی گرم بر

گیاهچه‌های یونجه یکساله و ماشک گل‌خوشه‌ای تحت تنش می‌گردد.

بر اساس نتایج غلامی و همکاران (۲۰۰۹)، اثرات منفی تنش شوری بر طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه بیشتر از سطوح تنش خشکی بوده است، ولیکن محققین دیگر اثرات کاهش تنش خشکی را بر طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه گزارش نموده‌اند (کایا^۲ و همکاران، ۲۰۰۶). طول ریشه گیاهچه ارتباط مستقیمی با مقدار (حجم) ریشه در زمان بلوغ دارد. به‌طوری که اگر ریشه‌چه‌ها تحت تأثیر تنش‌های محیطی نتوانند به‌خوبی رشد کنند، در زمان بلوغ نیز نمی‌توانند ریشه مناسبی تولید کرده و در نتیجه از عملکرد آن‌ها به‌شدت کم می‌شود. بنابراین اگر سطوح پایین شوری به گیاهچه القا گردد، گیاهان قوی‌تری نیز تولید خواهند شد (خدری^۳ و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج بررسی روی سطوح مختلف تنش شوری نشان داد که با افزایش مقدار آب عملکرد دانه و زیست توده در گیاهان به‌صورت خطی افزایش یافت. بنابراین توان گیاه در جذب آب و مواد غذایی بیشتر شده و روزنه‌ها مدت زمان طولانی‌تری باز می‌مانند و در نتیجه تولید ماده خشک افزایش می‌یابد (سوبرامانیان^۴ و همکاران، ۲۰۰۶).

با توجه به نتایج جدول ۴، صفات وزن خشک گیاهچه، وزن ذخایر پویا شده بذر و درصد تخلیه ذخایر پویا شده در برهم‌کنش روش‌های پیش‌تیماردهی و تنش شوری معنی‌دار گردید. با افزایش سطح شوری مقدار کمی این صفات به‌شدت کاهش یافت. بر اساس همین نتایج بیشترین وزن خشک گیاهچه (۰/۵۰۶ میلی‌گرم) در تیمار میدان مغناطیسی و در شرایط عدم تنش شوری مشاهده شد. رتبه‌های بعدی بیشترین وزن خشک گیاهچه در مقایسه با سایر روش‌های پیش‌تیماردهی بذر نیز به‌ترتیب در سطوح شوری ۳- (۰/۲۹ میلی‌گرم) و ۶- بار (۰/۱۸ میلی‌گرم) مشاهده شد، که در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ایجاد کرده بود. همچنین بیشترین وزن ذخایر پویا شده بذر در تیمار خراش‌دهی و در شرایط عدم تنش شوری

خشکی بر صفات مذکور بیش از تأثیر سطوح تنش شوری بود و در هر دو آزمایش تنش شوری و خشکی در سطح ۱۲- بار فرآیند جوانه‌زنی متوقف شده بود. از طرف دیگر بیشترین طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد در شرایط عدم تنش شوری (به‌ترتیب ۴۱/۱ میلی‌متر، ۲۱/۷۹ میلی‌متر و ۱۰۰ درصد) و خشکی (به‌ترتیب ۴۰/۵۷ میلی‌متر، ۱۵/۹۵ میلی‌متر و ۹۶/۶۷ درصد) به‌دست آمد (جدول ۳). محمودی و همکاران (۲۰۱۰) نیز نتیجه گرفتند؛ تنش خشکی با محدود کردن جذب آب توسط بذر، تأثیر بر حرکت و انتقال ذخایر بذر و یا با تأثیر بر ساختمان آلی و سنتز پروتئین جنین، جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همچنین کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌تواند به‌علت محدودیت فشار تورژسانس باشد. در نتیجه ایجاد استحکام و سختی در دیواره سلول‌های گیاهچه در حال رشد کاهش ارتفاع بوته را در پی خواهد داشت.

در مقایسه بین روش‌های پیش‌تیماردهی بذر در شرایط عدم تنش مشخص گردید که، بیشترین طول ریشه‌چه (۶۹ و ۶۴/۸۳ میلی‌متر)، طول ساقه‌چه (۴۳/۸ و ۲۶/۰۳ میلی‌متر) و درصد جوانه‌زنی (۱۰۰ و ۹۶/۶۷ درصد) در تیمار خراش‌دهی مشاهده شد. همچنین نهایت مقاومت بذر یونجه یکساله در مقابل تنش‌های شوری و خشکی ۹- بار بود که فرآیند جوانه‌زنی در تیمار شاهد در هر دو بخش تنش شوری و خشکی تا سطح ۹- بار رخ داد. هرچند بیشترین مقاومت جوانه‌های سبز شده در تیمار سرمادهی تحت تأثیر شرایط شوری و خشکی مشاهده شد، که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، ولیکن در مقایسه با سایر تیمارها نتایج خوبی در برابر سطوح پایین تنش‌های شوری و خشکی از خود نشان نداد (جدول ۳). پیش‌تیماردهی با سرما فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها را افزایش داده و منجر به افزایش مقاومت در برابر تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش شوری و خشکی می‌گردد (یونگ^۱ و همکاران، ۲۰۰۸). یوسفی‌تنها و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کرد که سرما موجب افزایش هیدرولیز مواد ذخیره شده در

² Kaya

³ Khadri

⁴ Subramanian

¹ Yong

جدول ۳. مقایسه میانگین روش‌های پیش‌تیماردهی بذر بر صفات جوانه‌زنی یونجه یکساله تحت تأثیر شوری و خشکی

Table 3. The means comparison of seed pre-treatment methods on annual medic characteristics affected by salinity and drought stresses

تیمارها Treatment	تنش Stress (Bar)	طول ریشه‌چه		طول ساقه‌چه		درصد جوانه‌زنی	
		Root length (mm)		Shoot length (mm)		Seed germination (%)	
		شوری Salinity	خشکی Drought	شوری Salinity	خشکی Drought	شوری Salinity	خشکی Drought
شاهد Control	0	41.1 c	40.57 c	21.79 c	15.95 bc	100 a	96.67 a
	-3	31.4 d	19.01 e	14.99 cd	4.74 d	88.33 b	83.33 b
	-6	10.93 f	5.44 fg	3.27 e	1.85 de	44 e	16.67 f
	-9	0.4 h	0.3 g	0.04 f	0.01 e	3.66 j	1.33 h
	-12	0 h	0 g	0 f	0 e	0 k	0 h
خراش‌دهی Scarification	0	69 a	64.83 a	43.8 a	26.03 a	100 a	96.6 a
	-3	43.56 c	39.1 c	31.33 b	12.16 c	86.66 b	84.3 b
	-6	4.6 g	0 g	3.7 e	0 e	33.34 f	26.7 de
	-9	0 h	0 g	0 f	0 e	0 k	6.67 g
	-12	0 h	0 g	0 f	0 e	0 k	0 h
سرمادهی Stratification	0	16.87 e	15.4 ef	5.83 e	4.63 d	85.67 b	80.33 b
	-3	8.13 f	8.83 f	3.56 e	1.2 de	60 d	33.33 d
	-6	3.53 g	2.93 g	2.26 ef	0.2 e	36.67 f	45 c
	-9	1.07 gh	0 g	0.16 f	0 e	5.33 j	0 h
	-12	0 h	0 g	0 f	0 e	0 k	0 h
فراصوت Ultrasonic	0	43.61 c	51.84 b	21.04 c	19.05 b	82.33 bc	100 a
	-3	41.12 c	55.65 b	19.05 c	19.92 b	86.33 b	100 a
	-6	8.92 f	6.01 fg	4.55 e	1.28 de	26.65 g	42.67 c
	-9	0.34 h	0.69 g	0 f	0.2 e	2.67 jk	7 g
	-12	0 h	0 g	0 f	0 e	0 k	0 h
میدان مغناطیسی Magnetic Field	0	58.28 b	29.21 d	26.43 bc	14.01 bc	43.33 e	80 b
	-3	32.19 d	13 ef	23.55 c	8.54 cd	20 h	36.67 cd
	-6	9.17 f	14 ef	1 f	1.71 de	13.3 i	6.67 g
	-9	0 h	0 g	0 f	0 e	0 k	3.33 gh
	-12	0 h	0 g	0 f	0 e	0 k	0 h

میانگین‌های دارای حروف مشابه در یک ستون در سطح خطای کمتر از ۰/۰۵ آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری با همدیگر نیستند.

The means with similar letters in each column have no significant difference according to Duncan's multiple range test at $P \leq 0.05$

بذر و درصد تخلیه ذخایر بذر در گندم وجود دارد. در مجموع، مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و خشکی (سطوح بیشتر از ۶- بار) با روش‌های پیش‌تیماردهی نشان داد که تمامی بذرهای در اثر سطوح تنش کاهش در بنیه گیاهچه را نشان دادند که با نتایج سلطانی و همکاران (۲۰۰۶) و عباسی و عبدالی (۲۰۱۷) همخوانی دارد.

(۰/۱۸۴ میلی‌گرم در بذر) به‌دست آمد، که با سطح شوری ۳- بار (۰/۱۷۳ میلی‌گرم در بذر) در تیمار مذکور اختلاف معنی‌داری نداشت.

وزن ذخایر پویا شده بذر ارتباط مستقیمی با درصد تخلیه ذخایر بذر دارد. بنابراین بیشترین درصد تخلیه ذخایر بذر نیز در تیمار خراش‌دهی و در شرایط عدم تنش شوری (۹۰/۶۵ درصد) مشاهده شد و با سطح شوری ۳- بار (۸۳/۲۸ درصد) اختلاف معنی‌داری نداشت. هر چند که سلطانی و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند، که اختلاف معنی‌داری بین وزن ذخایر پویا شده

جدول ۴. مقایسه میانگین روش‌های پیش‌تیماردهی بذر بر صفات جوانه‌زنی یونجه یکساله تحت تأثیر شوری
Table 4. The means comparison of seed pre-treatment methods on annual medic characteristics affected by salinity

تیمارها Treatment	تنش شوری Stress (Bar)	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight (mg)	وزن ذخایر پویا شده Weight of mobilized seed reserves (mg.seed ⁻¹)	درصد تخلیه ذخایر بذر Seed reserve depletion percentage
شاهد Control	0	0.092 d	0.128 b	63.32 b
	-3	0.042 e	0.07d	34.84 d
	-6	0.01 f	0.019 gh	9.59 fg
	-9	0.002 g	0.014 h	7.13 g
	-12	0 g	0.013 h	6.47 g
خراش‌دهی Scarification	0	0.067 de	0.184 a	90.65 a
	-3	0.08 d	0.173 ab	83.28 a
	-6	0.04 e	0.09 d	47.88 c
	-9	0 g	0.077 d	39.03 d
	-12	0 g	0.072 d	32.89 de
سرمادهی Stratification	0	0.022 ef	0.044 e	21.99 e
	-3	0.014 f	0.04 ef	20.02 ef
	-6	0.018 ef	0.059 e	29.03 de
	-9	0.014 f	0.052 e	25.59 e
	-12	0 g	0.067 de	33.31 d
فراصوت Ultrasonic	0	0.232 bc	0.101 d	49.97 c
	-3	0.054 e	0.116 c	57.33 bc
	-6	0.022 ef	0.037 f	18.51 ef
	-9	0.001 g	0.031 f	15.26 f
	-12	0 g	0.012 h	6.09 g
میدان مغناطیسی Magnetic Field	0	0.506 a	0.081 d	40.01 d
	-3	0.29 b	0.099 d	48.96 c
	-6	0.18 c	0.048 e	23.95 e
	-9	0 g	0.01 h	4.94 g
	-12	0 g	0.028 f	13.99 f

میانگین‌های دارای حروف مشابه در یک ستون در سطح خطای کمتر از ۰/۰۵ آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری با همدیگر نیستند.

The means with similar letters in each column have no significant difference according to Duncan's multiple range test at $P \leq 0.05$

نتیجه‌گیری

مذکور می‌باشد، بنابراین می‌تواند اثرات تنش‌های خشکی و شوری را بر گیاهچه و در مراحل بعدی رشد و نمو گیاهان به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. پرتودهی بذر به مدت ۶ تا ۹ دقیقه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گردید. همچنین امواج فراصوت توانسته است صفات وزن خشک گیاهچه را تحت تأثیر قرار دهد و اثرات تنش خشکی را کاهش داده است. افزایش مدت زمان پیش‌تیماردهی رابطه معکوسی

بر اساس نتایج آزمایش مشخص گردید که کاهش وزن خشک گیاهچه در مواجهه با سطوح تنش‌های شوری و خشکی در نتیجه کاهش وزن ذخایر پویا شده بذر (درصد تخلیه ذخایر بذر) بوده و تحت تأثیر راندمان پویایی ذخایر بذر قرار نگرفت. همچنین مهمترین اثر امواج فراصوت بر افزایش بنیه بذر و تأثیر بر ایجاد ریشه‌های قوی‌تر در مقایسه با گیاهان بدون اعمال تیمار

که در ۶۰ تا ۷۰ روز مقادیر مطلوبی علوفه تولید می- نماید) به کشاورزان توصیه گردد.

سیاسگزاری

این طرح پژوهشی مصوب ۱۳۹۷/۰۲/۱۸ به شماره ۹۷/۷۳۸ در شورای پژوهشی دانشگاه اراک می‌باشد، که بدین وسیله از دانشگاه اراک به‌خاطر پشتیبانی معنوی و مالی طرح مذکور تشکر و قدرانی می‌شود.

با درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه نشان داد. با توجه به گزارش‌های متعدد و مبنی بر اثرات مثبت پیش‌ تیماردهی با سرمادهی، میدان مغناطیسی و امواج فراصوت در رفع آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی و در نتیجه القای تحمل به تنش در گیاهان می‌توان از آنها در پیش‌ تیماردهی گیاهان دارای سختی بذر توصیه نمود. نتایج این تحقیق می‌تواند به‌عنوان یک مرحله مقدماتی در کشت و پرورش گیاه یونجه یکساله (گیاهی

منابع

- Abbasi Bidli, M. and Abdali Mashhadi, A.R. 2017. Effect of priming on germination characteristics and growth of the *Vigna radiata* (Shushtar ecotype) seeding under salinity stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 4(1): 75-88. [In Persian with English Summary].
- Alvandian, S., Vahedi, A. and Taghizadeh, R. 2013. Study the effect of ultrasound and chilling on germination of seeds of *Myrtus communis*. Journal of Seed Research, 3(3): 21-31. [In Persian with English Summary].
- Bertholdsson, N.O. and Tuveesson, S. 2005. Possibilities to use marker assisted selection to improve allelopathic activity in cereals. COST SUSVAR/ECO-PB Proceeding. (1).
- Cheeseman, J. 2016. Food Security in the Face of Salinity, Drought, Climate Change, and Population Growth, Halophytes for Food Security in Dry Lands, Urbana, IL, USA, 111-123. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801854-5.00007-8>
- Fariabi, A., Rasmmanesh, H., Keshvari, M. and Abdali, N. 2008. Effect of ultrasound on physiological and morphological processes of germination in *Capsicum annum* and *Raphanus sativus*. Abstracts of the 1st Iranian Congress of Seed Sciences and Technology. College of Agriculture, University of Gorgan, Gorgan, Iran.
- Food and Agriculture Organization (FAO) of the united nations. 2015. Status of the world,s soil resorces, regional assesment of soil changes in Europe and Eurasia, 332-363.
- Ghamari Zare, A., Rezvani, S. and Forootan, M. 2010. Assessment of resistance to PEG-induced drought in annual medic using aquaculture conditions. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 16(2): 182-197. [In Persian with English Summary].
- Gholami, A., Sharafi, S. and Abbasdokht, H. 2010a. Effect of magnetic field, priming and salinity on seed germination and early growth of wheat. World Academy of Science, Engineering and Technology, 4(8): 1073-1078.
- Gholami, A., Sharafi, S. and Abbasdokht, H. 2010b. Effect of magnetic field on seed germination of two wheat cultivars. World Academy of Science, Engineering and Technology, 4(8): 1079-1082.
- Hameed, A., Afzal, I. and Iqbal, N. 2010. Seed priming and salinity induced variations in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaf protein profile. Seed Science and Technology 38:236-241. [In Persian with English Summary]. <https://doi.org/10.15258/sst.2010.38.1.25>

- Kaya, M.D., Okcu, G., Aytak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. 2006. Seed treatments to overcome to salt and drought stress during germination in sunflower. *European Journal of Agronomy*, 24(4): 291-295. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2005.08.001>
- Khadri, M., Tejera, N.A. and Lluch, C. 2007. Sodium chloride-ABA interaction in two common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars differing in salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 211-218. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.10.008>
- Mahmudi, A.R., Barani, H., Soltani, A. and Sepehri, A. 2010. Effect of drought stress on *Medicago scutellata* L. in germination stage. *Journal of Rangeland*, 2(2): 113-124. [In Persian with English Summary].
- Michel, B.E. and Kaufman, M.R. 1973. The osmotic pressure of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51: 914-916. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>
- Mohan, S.V., Sirisha, K., Rao, R.S. and Sarma, P.N. 2007. Bioslurry phase remediation of chlorpyrifos contaminated soil: process evaluation and optimization by taguchi design of experimental (DOE) methodology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68(2): 252-262. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.06.002>
- Nazari, M., Sharififar, A. and Asghari, H. R. 2014. *Medicago scutellata* seed dormancy breaking by ultrasonic waves. *Plant Breeding and Seed Science*, 69(1): 15-64. <https://doi.org/10.1515/plass-2015-0002>
- Prasad, K.K., Venkata Mohan, S., Sreenivas Rao, R. and Sarma, P.N. 2005. Laccase production by *Pleurotus ostreatus* 1804: Optimization of submerged culture conditions by taguchi DOE methodology. *Biochemical Engineering Journal*, 24(1): 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2005.01.019>
- Salemi Nasab, M., Gholipour, M., Makarian, H. and Aryani Mohammadi, H. 2017. Irradiation effects of maize by ultrasonic waves in decrease of drought. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 10(2): 237-246. [In Persian with English Summary].
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1996. *Plant Physiology*. Wadsworth Publ. Co., Belmont, CA.
- Shabani, Gh., Chaichi, M.R., Ardakani, M.R. Khavazi, K. and Feridel, J.K. 2014. The effect of different fertilizing systems on seed yield and phosphorous absorption in annual medic var. Robinson. *Agronomy Journal*, 98(1): 141-150. [In Persian with English Summary].
- Sharafi, S., Khaneh, Z., Akhlaghi, S. and Jouyban, Z. 2012. Germination, seed reserve utilization and seedling growth rate of five crop species as affected by salinity and drought stress. *Life Science Journal*, 9(1): 94-101.
- Sharafi, S., Ramroudi, M., Nassiri, M., Galavi, M. and Kamali, G. 2016. Role of early warning systems for sustainable agriculture in Iran. *Arabian Journal of Geoscience*, 9(1): 734-754. <https://doi.org/10.1007/s12517-016-2671-8>
- Sharafi, S., Sharafi, A., Salehi Arjmand, H. and Ghasemi, S. 2008. Comparison of complete and partial factorial designs in some agriculture experiments based on Tagucci method. The 10th Iranian Congress of crop sciences, 18-20 August, 2008. Crop Sciences Society, Karaj, Iran. [In Persian with English Summary].

- Soltani, A., Gholipoor, M. and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1-2): 195-200. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.10.012>
- Subramania K.S., Santhanakrishnan, P. and Balasubrananian, P. 2006. Responses of field grown Tomato plants to Albuscular mycorrihizl fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturea*, 107(3): 245-253. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.07.006>
- Wu, H. 2005. Molecular approaches in improving wheat allelopathy Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy, August 2005, Wagga Wagga, Australia.
- Yong, Z., Hao-Ru, T. and Ya, L. 2008. Variation in antioxidant enzyme activities of two strawberry cultivars with short-term low temperature stress. *World Journal of Agricultural Sciences* 4: 458-462.
- Yousefi Tanha, E., Falah, S. and Tadaion, A. 2014. Effect of seed priming on some physiological characteristics of *Pisum sativum* L. under chilling stress. *Plant Function and Processing*, 4(13): 1-15.

Research Article

Effective Methods for Improving Seed Germination of *Medicago scutellata* Affected by Salinity and Drought Stresses**Saeed Sharafi****Extended Abstract**

Introduction: Germination and seedling establishment are the primary stages of crop growth that are highly sensitive to salinity and drought stresses. On the other hand, seed hardness affects the quality of plant germination. Therefore, the aim of this study was to analyze the effect of seed pre-treatment on germination characteristics of *Medicago scutellata* var Rabinson.

Material and methods: In the present study, the effects of pre-treatment methods of scarification (sand paper, knife and sand), stratification (0, -5, -10, and -15 °C), ultrasonic waves (3, 6, 9, 12, and 15 min), and magnetic field (two intensities of 125 and 250 mT in 4 times exposure by 6, 12, 18, and 24 h) on seed germination of annual medic germination affected by salinity and drought stresses (0, -3, -6, -9, and -12 bar) were investigated with three replications. Twenty seeds per Petri dish were used for each treatment. Seedlings were incubated in the dark at 20/18±0.3°C in a growth chamber. After ten days, the dry weight of the seedling was obtained after oven drying at 70°C. Root length, shoot length, seed germination percentage, seedling growth rate (SLGR), the weight of mobilized seed reserve (WMSR), seed reserve depletion (SRDP), and seed reserve utilization efficiency (SRUE) were measured.

Results: Based on the preliminary results using Taguchi method, the -15 °C stratification treatments under salinity and drought, 6 and 9 min of exposure to ultrasonic waves under salinity and drought, and magnetic field intensity of 250 mT for 6 and 9 h were chosen for the experiment of salinity and drought, respectively. In salinity experiment, the maximum root length (23.47 mm), shoot length (15.76 mm), weight of mobilized seed reserve (0.119 mg per seed), and seed reserve depletion percentage (58.9 %) was in scarification treatment; the maximum seed germination (47.2 %) was observed in control treatment; the maximum seedling dry weight (0.195 mg) was identified in magnetic field treatment; and the maximum seed reserves utilization efficiency (0.665 mg.mg.seed⁻¹) was obtained in ultrasonic waves treatments. In drought experiment, the maximum root length (22.84 mm), shoot length (8.09 mm), seed germination (49.93 %), the weight of mobilized seed reserve (0.096 mg per seed), and seed reserve depletion percentage (43.1 %) was measured in ultrasonic treatment; the maximum seedling dry weight (0.09 mg) was found in magnetic field treatment; and the maximum SRUE (0.516 mg.mg.seed⁻¹) was observed in control treatment.

Conclusions: According to the results, there is a direct relationship between the decline in seedling dry weight and the decline in the weight of mobilized seed reserve. However, the scarification and ultrasonic waves' treatments had significant effects on seedlings resistance to salinity and drought, respectively. Furthermore, the use of ultrasonic waves and scarification produced higher germination percentage and more vigorous seedlings under drought and saline conditions. In terms of germination and seedling growth, the differences among the treatments increased by the increase in stress intensity. This advantage led to greater seed reserve utilization. Moreover, pre-treatment methods resulted in longer cotyledon length and improvement in vigorous seedlings. Future studies should focus on the study of enzymes activity and/or hormones affecting seed reserve utilization rate in response to drought and salinity stress.

Keywords: *Magnetic field, Osmotic potential, Ultrasonic waves, Scarification, Stratification*

Highlights:

- 1- The most sensitive growth stage of annual medic (seedling production stage) to salinity and drought stress was evaluated.
- 2- Various pre-treatments to improve the germination of annual medic to enter crop rotation in arid and semi-arid regions due to self-seeding and short growing period were investigated.

