University of Birjand

Journal homepage:
https://escs.birjand.ac.ir

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences

Vol. 17, No. 2, pp. 271-286 (Summer 2024)

https://dx.doi.org/10.22077/ESCS.2023.5740.2171

Original article

Evaluation of physiological characteristics and forage quality of Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.) under the different irrigation levels

M. Moradi-Ghahderijani, S.A.M. Modarres-Sanavy*, A. Mokhtassi-Bidgoli, A. Heidarzadeh

Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received 31 October December 2022; Accepted 19 Decdmber February 2022

Extended abstract

Introduction

One of the most important problems threatening agriculture is water deficit stress in many regions of the world. Water deficit stress could result in a decrease in yielding or death of a wide range of crops. In Iran, like other arid and semi-arid regions, forage quality and production have decreased due to the occurrence of frequent water stress. Restriction of water resources, especially in arid and semi-arid regions where agricultural systems depend on supplementary irrigation, has become the most important problem of fodder production. Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.) is a forage legume cultivated in the temperate region of world; it is of great value for livestock feed, soil improvement, and reclaiming disturbed land because of its nitrogen-fixing capability. The purpose of this research, was evaluate the effect of water deficit stress on the physiological and qualitative traits of fodder of Persian clover.

Materials and methods

An experiment was carried out during the 2016 and 2017 cropping seasons as a randomized complete block design at the Research Farm of Tarbiat Modares University. Experimental treatments included water deficit stress at four levels. The tested treatments included water deficit stress at four levels (irrigation after reaching the levels of 80, 60, 40 and 20% available moisture). Irrigation of all treatments was carried out at the level of 70% of available water until the start of stress in the final stages of vegetative growth of the second cut. To measure the effects of water deficit stress on physiological traits physiological indexes were recorded during the first 10 days of stress treatment, every day. The clovers were harvested at about 20-25% flowering stage. After drying, they were transferred to the laboratory to determine the quantitative and qualitative feed yield. Based on Bartlett's test results, the experiment's dependent variables had the same trend.

Results and discussion

The results show that the irrigation regime had a significant effect on all traits. Irrigation treatments at 80 and 60% of available water had the highest dry matter yield, and delaying irrigation until 40 and 20% caused a 19% and 36% significant decrease in this trait. Also, stress at the level of 20% caused a 27% decrease in fodder protein, a 10% increase in acid detergent fiber and neutral detergent fiber, and finally, an 16% reducing relative feed value. Evaluation of physiological traits in the first ten days of the

* Corresponding author: Seyed Ali Mohammad Modarres-Sanavy; E-Mail: modaresa@modares.ac.ir

© 2024, The Author(s). Published by University of Birjand. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0).

beginning of water stress showed a continuous increase in leaf temperature from 30.5 to 34 ˚C, and 49, 50, and 15% decrease in photosynthesis rate, stomatal conductance, and SPAD index, respectively. It Also reduces the concentration of chlorophyll a and b 25 and 40 percent. The return of increased leaf temperature and reduced stomatal conductance due to the discharge of 80% moisture was fast to the initial level, but other traits slowly approached the value before the stress. It seems that returning to initial values at levels of 80 and 60 is easily possible for the plant, but with the increase in the intensity of stress, the damage of dehydration is slowly compensated.

Conclusion

The experiment results showed that the photosynthesis rate and other physiological traits of Persian clover significantly react to the soil's decreased available water. In most physiological traits, irrigation after the available soil moisture reached 60% caused a relatively quick return to the initial value. There was no significant difference in fodder yield in the 80% and 60% irrigation treatments. When the available soil moisture reached 40%, the physiological traits showed a greater decrease than before. It seems that some damages to physiological traits are irreparable to such an extent that they eventually lead to a drop in yield or a decrease in the quality of Persian clover fodder. Finally, it is not necessary for clover irrigation at levels of more than 60% of available water, taking into account the more quality of forage in the level of 60% (about 1.5% of insoluble fiber, and 11% feed value), considering the water conditions of the country.

Keywords: Chlorophyll concentration, Fodder plants, Photosynthesis rate, Protein, Stomatal conductance

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد هفدهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۳

https://dx.doi.org/10.22077/ESCS.2023.5740.2171

مقاله پژوهشی

ارزیابی خصوصیات فیزیولوژیکی و کیفیت علوفه شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum* L.) تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری

مهرداد مرادی‌قهدریجانی، سید علی‌محمد مدرس‌ثانوی*، علی مختصی‌بیدگلی، علی حیدرزاده

گروه آگروتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
پروتئین
سرعت فتوسنتز
غلظت کلروفیل
گیاهان علوفه‌ای
هدایت روزنه‌ای

تاریخ دریافت:
۱۴۰۱/۰۸/۰۹

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۱/۰۹/۲۸

تاریخ انتشار:
تابستان ۱۴۰۳
۱۷(۲): ۲۷۱-۲۸۶

چکیده

به‌منظور ارزیابی تأثیر تنش کم‌آبی بر صفات فیزیولوژیکی و کیفیت علوفه شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum* L.) آزمایشی طی سال‌های زراعی ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس به اجرا درآمد. تیمارهای مورد آزمایش شامل تنش کم‌آبی در چهار سطح (آبیاری پس از رسیدن به سطوح ۸۰، ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد رطوبت قابل‌دسترس) بود. آبیاری تمامی تیمارها تا زمان شروع تنش در مراحل پایانی رشد رویشی چین دوم در سطح ۷۰ درصد آب در دسترس انجام شد. نتایج نشان داد تنش کم‌آبی بر تمامی صفات موردبررسی اثر معنی‌داری داشت. تیمارهای آبیاری در ۸۰ و ۶۰ درصد آب در دسترس گیاه، با عملکرد ماده خشک ۵/۱۰ و ۴/۹۸ تن در هکتار بالاترین مقدار را داشتند و تعویق آبیاری تا حدود ۴۰ و ۲۰ درصد آب در دسترس گیاه موجب کاهش معنی‌دار ۱۹ و ۳۶ درصدی این صفت شد. همچنین آبیاری در سطح ۲۰ درصد موجب کاهش ۲۷ درصدی محتوی پروتئین علوفه، افزایش حدود ۱۲ درصدی الیاف نامحلول در شوینده‌های اسیدی و خنثی و درنهایت کاهش ۱۶ درصدی ارزش غذایی نسبی شد. در مقایسه روند تغییرات صفات فیزیولوژیک در ۱۰ روز ابتدایی شروع تنش آبی، افزایش پیوسته دمای برگ از ۳۰/۵ تا ۳۴ درجه سانتی‌گراد، افت ۴۹، ۵۰ و ۱۵ درصدی سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و شاخص سبزینگی و کاهش غلظت کلروفیل **a** و **b** به میزان ۲۵ و ۴۰ درصد مشاهده شد. هرچند کاهش ۸۰ درصدی رطوبت در دسترس، سبب کاهش هدایت روزنه‌ای و افزایش دمای برگ شده بود، اما با برگشت به شرایط نرمال رطوبتی، دمای برگ و هدایت روزنه‌ای با سرعت و سایر صفات به‌آرامی به وضعیت پیش از تنش بازگشتند. با توجه به همبستگی بالا بین سرعت فتوسنتز و عملکرد علوفه توجه بیشتر به این صفت در پژوهش‌های آینده لازم به نظر می‌رسد. درمجموع نتایج نشان‌داد آبیاری در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی هم می‌تواند عملکرد کیفی و کمی بالا و قابل قبولی داشته باشد و هم در مصرف آب بهینه عمل کرد.

مقدمه

بیشتر وسعت کشور ایران واقع در کمربند خشکی دنیاست که اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک را در برگرفته است. بر این اساس شناسایی مکانیسم‌های پاسخ با تنش و مقاومت به خشکی، ضروری است (Nikou et al., 2014). با در نظر داشتن نیاز روزافزون به محصولات دامی، توجه به زراعت گیاهان علوفه‌ای در شرایط کم‌آبی اهمیت خاصی دارد.

شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum* L.) بومی آسیای صغیر و ایران و مصر است ازنقطه‌نظر چرا و یا تولید علوفه گونه باارزشی است و با رغبت و میل وافر به‌وسیله چهارپایان و ماکیان خورده می‌شود. این شبدر را چنانچه به‌خوبی و مطابق اصول صحیح خشک کنند، علوفه خوش-خوراک و مغذی برای احشام خواهد بود (Karimi, 1996). درمجموع سطح زیر کشت گونه‌های شبدر در ایران حدود ۶۰ هزار هکتار برآورد شده است که عملکردی در حدود ۵۲۰ هزار تن علوفه‌ی خشک را در شرایط آبی و دیم در پی داشته است (Abbasi et al., 2019).

* نگارنده پاسخگو: سیدعلی‌محمد مدرس‌ثانوی. پست الکترونیک: modaresa@modares.ac.ir

بررسی کیفیت علوفه و اطلاع از پارامترهای کیفی علوفه، از موارد مهم مدیریت منابع در مزرعه تولید علوفه است و فاکتورهایی چون پروتئین خام[1] (CP) دیواره سلولی منهای همی‌سلولز[2] (ADF) و قابلیت هضم ماده خشک[3] (DMD) سهم بیشتری را بر عهده‌دارند (McDonald et al., 2011).

تنش، روند غیرعادی فرایندهای فیزیولوژیک است که تحت تأثیر عوامل محیطی و زیستی رخ‌داده و موجب افت ظاهری، بازده و عملکرد آن‌ها می‌شود (Spinedi et al., 2021). گیاهان برای رشد، بقا و انجام فرایندهای فیزیولوژیک، مانند فتوسنتز و جذب مواد غذایی به حفظ سطوح کافی از آب در بافت‌های خود در شرایط تنش کمبود آب نیازمندند. درنتیجه تنش کم‌آبی، فشار تورژسانس سلول گیاهی کاهش‌یافته و اثرات مضر آن بر فیزیولوژی گیاه به‌صورت کاهش رشد سلول، اختلال در تشکیل دیوار سلول، کاهش متابولیسم و فتوسنتز، اختلال در تولید پروتئین و درنهایت کاهش عملکرد ازجمله آثار این تنش هستند (O'Brien et al., 2013).

مشاهده‌شده که در تیمارهای آبیاری تا ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه، کاهش عملکرد علوفه در شبدر ایرانی و شبدر برسیم معنی‌دار بوده و کیفیت علوفه آن‌ها با کاهش آب در دسترس کاهش یافته است (Balazadeh et al., 2021). پژوهشگران بیان داشتند در سالی که رطوبتی بیشتری در دسترس گیاه شبدر بوده، گونه‌های مختلف این گیاه عملکرد کمی بالاتری از خود نشان داده است (Abbasi et al., 2022). در تحقیق دیگری نیز مشخص شد در شرایط کم‌آبیاری و آبیاری نرمال قابلیت تولید شبدر از ۲/۷ تا ۸/۵ تن در هکتار متفاوت بوده است (Abbasi et al., 2019). با افزایش درصد تخلیه رطوبتی در منطقه ریشه، صفات کیفی علوفه نظیر DDM، فیبر خام، CP، خاکستر، ADF و دیواره‌ی سلولی کاهش یافتند (Nematollahi et al., 2020). همچنین در زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss) در شرایط تنش کم‌آبی متوسط (آبیاری بعد از تخلیه ۶۰ درصد آب قابل‌استفاده) و کاربرد آزوکمپوست، ۵۷/۸ درصد ماده خشک قابل‌هضم تولید شد (Heidarzadeh et al., 2021). تنش کم‌آبی منجر به فعال کردن مسیرهای پیغام‌رسان اختصاصی شده که سبب تنظیم بیان ژن، تغییر در تولید و فعالیت پروتئین می‌شود (Spinedi et al., 2021).

گزارش‌های موجود در مورد تأثیر تنش خشکی بر میزان کلروفیل برگ متفاوت است. افزایش، کاهش و یا عدم‌تغییر میزان کلروفیل برگ تحت شرایط تنش خشکی با توجه به نوع محصول، مرحله رشد، طول دوره رشد و شدت تنش خشکی تفاوت دارد (Naveed et al., 2021). از طرفی کاهش سطح برگ در شرایط تنش طولانی‌مدت خود منجر به افزایش غلظت کلروفیل موجود در واحد سطح برگ می‌شود (Ebrahimi-Sborezi et al., 2021). در بررسی سه سطح تنش کم‌آبی شامل تنش ضعیف، متوسط و شدید بر سه رقم یونج نتایج نشان‌دهنده‌ی کاهش عملکرد محصول با افزایش شدت تنش بود و بین ارقام ازلحاظ میزان عملکرد علوفه، اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (Berrada, 2005). نتایج بررسی اثرات خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول ۸۰۰۰ شامل ۰، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ مگاپاسکال بر صفات فیزیولوژیک در گیاه خلر (*Lathyrus sativa* L.) نشان داد که خشکی سبب کاهش میزان کلروفیل کل برگ شد (Sadeghi and Khani, 2012). هم‌زمان با تنش خشکی، روزنه‌های برگ نیز بسته می‌شوند تا از هدررفت آب جلوگیری کنند. درنتیجه بسته شدن روزنه‌ها، ورود دی‌اکسید کربن نیز کاهش می‌یابد که خود موجب اختلال فتوسنتز و تثبیت کربن می‌شود (Rouphael et al., 2012). در اثر تنش خشکی رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و کارتنوئیدها در برگ‌ها از بین رفته، کلروفیل‌ها سریع‌تر از کارتنوئیدها شکسته و تجزیه‌شده، نسبت جذب CO_2 در برگ‌ها، به علت بسته شدن روزنه‌ها کمتر و فعالیت تیلاکوئیدها کاهش می‌یابد. خشکی همچنین باعث شکسته شدن کلروپلاست‌ها شده و درنهایت مقدار فعالیت آنزیم‌ها را در چرخه کالوین کاهش می‌دهد (Aaltonen et al., 2017).

درمجموع و با توجه به وابستگی گیاهان علوفه‌ای خانواده بقولات به میزان آب و همچنین کمبود منابع آبی در کشور، هدف از این تحقیق بررسی واکنش برخی صفات فیزیولوژیکی شبدر ایرانی در روزهای شروع تنش و پاسخ این صفت‌ها به آبیاری پس از تنش کم‌آبی است. همچنین عملکرد کیفی و کمی این علوفه به سطوح مختلف آب در دسترس خاک بررسی می‌شود.

[1] Crude Protein

[2] Acid Detergent Fiber

[3] Dry Matter Digestible

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو سال زراعی ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس واقع در اتوبان تهران-کرج، انجام شد. عملیات شخم و دیسک، دو بار و به‌صورت عمود بر هم انجام شد. هر دو سال در اردیبهشت‌ماه (۱۲ اردیبهشت سال اول، ۱۱ اردیبهشت سال دوم) شبدر ایرانی کشت شد. به‌منظور اطمینان خاطر از تلقیح یکنواخت باکتری مناسب شبدر، در هنگام کاشت بذور مورداستفاده با باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم (*Biovar trifolii*) تلقیح و سپس کاشته شدند. با توجه به آنالیز خاک (جدول ۱) و محاسبه نیتروژن آزادشده در طول فصل زراعی از خاک مزرعه و کسر آن از نیاز غذایی شبدر ایرانی ۲۰ روز پس از کاشت، ۴۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن از منبع اوره به‌عنوان استارتر اعمال شد (Zamanian, 2005).

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیائی خاک مورد آزمایش

Table 1. Physicochemical characteristics of experimental soil

Characteristics	صفات	مقدار (Value) سال اول (1st year)	مقدار (Value) سال دوم (2nd year)	واحد (Unit)
Electrical conductivity	هدایت الکتریکی	1.68	1.71	dS m^{-1}
FC	ظرفیت زراعی	0.16	0.17	%
PWP	نقطه پژمردگی دائم	78.6	78.5	%
Texture	بافت خام	-	-	sandy loam
clay	رس	5	5	%
loam	لوم	20	20	%
Sand	شن	75	75	%
Organic carbon	کربن آلی	1.28	1.36	%
Cu	مس	0.72	0.71	mg kg^{-1}
Zn	روی	0.9	1.1	mg kg^{-1}
Fe	آهن	7.1	7.2	mg kg^{-1}
K	پتاسیم قابل جذب	360	348	ppm
P	فسفر قابل جذب	41.6	40.2	ppm
N	نیتروژن کل	0.102	0.134	%

علف‌های هرز به‌صورت دستی وجین شد. پس از برداشت هر چین ۲۰ کیلوگرم کود نیتروژن در هکتار بکار رفت. کود آهن (به‌صورت کلات و به مقدار سه کیلوگرم در هکتار)، بر و کلسیم (به‌صورت منبع کلبر CaO+Born به میزان دو کیلوگرم در هکتار)، منیزیم (به‌صورت سولفات منیزیم $MgSO_4$ و به میزان ۱۰ کیلوگرم در هکتار) به‌صورت محلول در آب، هنگام آبیاری در آبیاری دوم هر چین استفاده شد.

آزمایش به‌صورت بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. هر کرت شامل چهار خط کاشت بافاصله‌ی ۳۰ سانتی‌متر به طول سه متر بود. نوع کشت جوی پشته بود میزان ۱۵ کیلوگرم بذر در کف جوی‌ها به‌صورت مخلوط با خاک سطحی کاشته شد. فاصله بین کرت‌ها دو متر در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایشی شامل رژیم‌های آبیاری در چهار سطح مطلوب، کم‌آبیاری متوسط و کم‌آبیاری شدید و کم‌آبیاری خیلی شدید (آبیاری در سطوح ۸۰، ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد آب در دسترس در منطقه ریشه) قبل از شروع گلدهی در مراحل انتهایی رشد رویشی چین دوم تا زمان برداشت چین دوم گیاه اعمال شد. قبل از شروع تنش نیز در تمامی مراحل رشد برای همه کرت‌ها آبیاری در سطح ۷۰ درصد ظرفیت زراعی انجام می‌شد. تیمارهای مذکور از ۸۰ درصد به ۲۰ درصد به ترتیب معادل آبیاری زیاد، آبیاری متوسط، تنش ضعیف و تنش شدید هستند.

برای اینکه میزان آبیاری و تنش کم‌آبی با دقت اعمال شود، آبیاری قطره‌ای برای مزرعه فوق در نظر گرفته شد. به همین منظور، لوله PVC (Polyvinyl chloride) و لوله‌های پلاستیکی (تیپ) مخصوص آبیاری قطره‌ای انتخاب شد. در زمان تنش به‌منظور تعیین زمان آبیاری، از روش انعکاس سنجی به‌وسیله دستگاه TDR مدل TRIM-FM-IMKO-

3 استفاده شد. قبل از کاشت لوله‌های مخصوص دستگاه، در میان کرت‌های آزمایش کار گذاشته شد. تیمارهای آبیاری بر اساس حداکثر تخلیه مجاز[1] (MAD) تنظیم شدند (Heidarzadeh et al., 2022).

$$MAD=\frac{FC-\theta}{FC-PWP} \quad [۱]$$

در رابطه بالا، منظور از FC درصد رطوبت حجمی خاک در حد ظرفیت زراعی[2]، θ رطوبت اندازه‌گیری شده خاک و PWP درصد رطوبت حجمی خاک در حد نقطه پژمردگی[3] دائم است. درنهایت حجم آبیاری موردنیاز هر تیمار از روابط ۲ و ۳ به دست آمد:

$$ASW=FC-PWP \quad [۲]$$

$$V=ASW \times MAD \times R_z \times 10 \quad [۳]$$

که V حجم آب آبیاری (mm)، ASW، آب در دسترس خاک[4]، Rz نیز عمق مؤثر ریشه (۰/۳۵ متر) و ۱۰ مقدار ثابت تبدیل میلی‌متر به سانتی‌متر است. با توجه به عدم وجود تحقیقات علمی درزمینه‌ی عمق مؤثر ریشه شبدر ایرانی در شرایط خاک لومی شنی مزرعه تحقیقاتی، این مؤلفه در حین تحقیقات قبلی با حفر پروفیل مشخص شده است.

حجم نهایی آب مصرفی برای همه‌ی تیمارها تا پایان چین اول حدود ۲۴۰۰ مترمکعب بر هکتار بود. ۲۱۹۰، ۲۰۱۵، ۱۸۴۳ و ۱۶۸۰ مترمکعب به ترتیب برای تیمارهای ۸۰ تا ۲۰ درصد رطوبت در دسترس گیاه در چین دوم آب مصرف شد.

برای اندازه‌گیری اثرات تنش کم‌آبی بر صفات فیزیولوژیک در طی ۱۰ روز اول شروع تیمار تنش هرروز صفات شاخص سبزینگی با دستگاه SPAD (Minolta)، سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و دمای برگ با دستگاه لایکور (Li-cor 6400 portable photosynthetic system, LI-COR, Inc., Lincoln, Nebraska, USA) ثبت شدند. شاخص‌های دستگاه، زمانی ثبت شد که متغیر رطوبت به پایین‌تر از حد آستانه ۰/۰۵ رسید. به‌منظور پرهیز از اثرات تغییر نور در طول روز بر مقادیر این صفات، اندازه‌گیری عموماً ساعت ۱۱ تا ۱۲ ظهر به‌صورت چرخشی بین تیمارها و تکرارها انجام شد. مقدار کلروفیل a و b به روش آرنون (Arnon, 1967) در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کیفیت علوفه، به‌طور تصادفی یک نمونه ۵۰۰ گرمی از علوفه انتخاب و به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید، سپس نمونه‌ها توزین و درصد ماده خشک آن‌ها محاسبه شد. پروتئین خام بر اساس محاسبه درصد نیتروژن (با روش کجلدال) طبق رابطه ۴ محاسبه گردید.

$$\text{پروتئین خام} = \text{نیتروژن} \times 6.25 \times 100 \quad [۴]$$

دیواره سلولی منهای همی سلولز (ADF) با استفاده از محلول شوینده اسیدی و دیواره سلولی (NDF) با استفاده از محلول شوینده خنثی بر اساس روش‌های استاندارد توصیه‌شده اندازه‌گیری شد (Jafari et al. 2003).

ماده خشک قابل‌هضم:

$$DMI= 120/NDF\% \quad [۵]$$

ماده خشک مصرفی:

$$DDM=88.9-(0.779\times ADF\%) \quad [۶]$$

ارزش غذایی نسبی (RFV) از روابط ۵، ۶ و ۷ دست آمد (Lithourgidis et al., 2006).

$$RFV= \%DDM \times \%DMI \times 0.775 \quad [۷]$$

برای اندازه‌گیری عملکرد علوفه خشک، گیاهان در زمان ۲۵-۲۰ درصد گلدهی برداشت و پس از خشک شدن، جهت تعیین عملکرد کمی علوفه وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. چین اول در سال اول در ۲ مردادماه و سال دوم در ۴ مردادماه برداشت شد. چین دوم هر دو سال در روز ۲۱ برای تیمار ۲۰ درصد رطوبت در دسترس و مابقی تیمارها ۲۶ شهریور برداشت شد. داده‌های هواشناسی در جدول ۲ نشان داده‌شده است.

در پایان داده‌ها با استفاده نرم‌افزار SAS 9.2 بعد از اطمینان از نرمال بودن باقی‌مانده داده‌ها آنالیز شد. بر اساس نتایج آزمون بارتلت متغیرهای وابسته این آزمایش روند یکسانی را داشتند؛ لذا تجزیه مرکب انجام گرفت. در ارزیابی عملکرد کیفی و کمی سال به‌عنوان متغیر تصادفی و در ارزیابی صفت‌های فیزیولوژیک سال و روزهای نمونه‌برداری به‌عنوان متغیر تصادفی در نظر گرفته شد. برای تجزیه واریانس از رویه GLM استفاده شد. مقایسه به روش دانکن انجام شد.

[1] Maximum allowable depletion
[2] Field capacity
[3] Permanent wilting point
[4] Available soil water

جدول ۲. مشخصات هواشناسی محل مورد آزمایش

Table 2. The meteorological characteristics of the study region

Months	ماه	April فروردین	May اردیبهشت	June خرداد	July تیر	August مرداد	September شهریور
2017	1396						
MMIN	دمای حداقل	16.1	20.27	23.12	23.85	21.94	15.84
MMAX	دمای حداکثر	28.63	32.96	36.09	35.65	33.55	26.75
M.A.T. (°C)	میانگین دمای هوا	22.365	26.615	29.60	29.75	27.745	21.295
Rain (mm)	میزان بارندگی	0.37	0.21	0.05	0	0	0
2018	1397						
MMIN	دمای حداقل	16.29	21.76	23.14	24.33	22.85	14.61
MMAX	دمای حداکثر	27.33	34.17	35.9	36.04	33.28	25.07
M.A.T. (°C)	میانگین دمای هوا	21.81	27.965	29.52	30.185	28.065	19.84
Rain (mm)	میزان بارندگی	1.08	0	0.5	0	0	0.2

M.A.T. = mean air temperature.

نتایج و بحث

پروتئین خام علوفه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که درصد پروتئین خام علوفه به‌طور یکسانی در دو سال تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت. به‌طوری‌که با افزایش شدت تنش خشکی از درصد پروتئین خام علوفه کاسته شد (جدول ۳). بیشترین درصد پروتئین خام علوفه در تیمار آبیاری زیاد با میانگین ۱۷/۷ درصد به دست آمد که نسبت به آبیاری در سطح ۲۰ درصد ظرفیت زراعی تقریباً ۲۷ درصد بیشتر بود (جدول ۴).

ازآنجایی‌که میزان پروتئین علوفه با محتوای نیتروژن موجود در پیکره گیاهی همبستگی مثبت دارد (Markovi´c et al., 2019)، میزان پروتئین خام علوفه نیز به دلیل افزایش میزان نیتروژن حاصل از تثبیت زیستی بهبود یافته است. به همین دلیل کاهش میزان پروتئین خالص علوفه در شرایط تنش را می‌توان به کاهش آب قابل‌دسترس گیاه، کاهش فعالیت باکتری‌های خاکزی و کاهش تولید انرژی گیاه به‌منظور تبادل با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن عنوان کرد که درنهایت منجر به کاهش نیتروژن و پروتئین علوفه می‌شود. پژوهشگران بیان داشتند که با افزایش تنش کم‌آبی از ۳۵ درصد تخلیه رطوبت در دسترس گیاه به ۶۵ درصد میزان پروتئین خام گونه‌های مختلف شبدر ۲۳ درصد کاهش می‌یابد (Nematollahi et al., 2020).

جدول ۳. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات موردبررسی تحت تأثیر تیمارهای آبیاری

Table 3. Analysis of variance measured traits on the effects of different irrigation treatments.

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	پروتئین خام Crude protein	الیاف نامحلول در شوینده‌های اسیدی Acid detergent fiber (ADF)	الیاف نامحلول در شوینده‌های خنثی Neutral Detergent Fibers (NDF)	ارزش غذایی نسبی Relative feed value (RFV)	عملکرد ماده خشک Dry yield matter
Year	سال	1	0.02^{ns}	0.093^{ns}	0.06^{ns}	1.93^{ns}	0.0016^{ns}
Year (Rep)	سال (تکرار)	4	0.11	0.028	0.35	4.29	0.006
Treatment	تیمار	3	28.6**	26.2**	31.0**	732.2**	4.80**
Treatment ×Year	سال×تیمار	3	0.42^{ns}	0.021^{ns}	0.003^{ns}	0.12^{ns}	0.023 ^{ns}
Error	خطا	12	0.096	0.32	0.15	0.19	0.016
CV (%)	ضریب تغییرات		*2.05*	*1.78*	*0.93*	*1.24*	*2.92*

ns: غیرمعنی‌داری. * و **: معنی‌داری به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns: not significant. * and **: significant at the 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های صفات کیفی علوفه شبدر ایرانی تحت تأثیر سطوح مختلف تیمارهای آبیاری

Table 4. Comparison of the quality traits averages of Persian clover fodder under the influence of different levels of irrigation treatments.

سطوح آبیاری Irrigation level	پروتئین خام Crude protein	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber (ADF	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fibers (NDF)	ارزش غذایی نسبی Relative feed value (RFV)	عملکرد ماده خشک Dry yield matter
	----------%----------				$t.ha^{-1}$
80	17.75[a]	31.2[c]	41.6[c]	144.7[b]	5.10[a]
60	15.9[b]	29.2[d]	40.1[d]	153.6[a]	4.98[a]
40	13.7[c]	32.8[b]	43.7[b]	134.9[c]	4.07[b]
20	13.0[d]	34.0[a]	45.2[a]	128.4[d]	3.18[c]

حروف مشترک در هر ستون نشان از عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

Different letters on each column indicates significant difference.

الیاف نامحلول در شوینده‌های اسیدی و خنثی

کمترین میزان ADF و NDF که نشان‌دهنده‌ی مطلوب‌ترین علوفه است در شرایط آبیاری متوسط به دست آمد. بیشترین میزان ADF در تیمار تنش شدید با میانگین ۳۴ درصد به دست آمد که نسبت به آبیاری زیاد، ۸/۳ درصد بیشتر بود (جدول ۴). اگرچه آبیاری در تنش متوسط باعث کاهش معنی‌دار ADF نسبت به تنش شدید شد؛ اما آبیاری زیاد باعث افزایش مجدد درصد ADF شد. هرچند که آبیاری متوسط مقادیر ADF و NDF کمتری از آبیاری زیاد داشت، تنش کم‌آبی باعث افزایش درصد NDF شد به‌نحوی‌که تنش شدید بیشترین درصد NDF (۴۵/۲ درصد) را دارا بود و بعدازآن تنش متوسط (۴۳/۷ درصد) در رتبه دوم قرار داشت (جدول ۵). افزایش NDF و ADF در شرایط تنش کم‌آبی را می‌توان به کاهش نسبت برگ به ساقه و افزایش میزان مواد لیگنینی و سلولزی در ساقه‌ها نسبت داد که درنتیجه از کیفیت و خوش‌خوراکی علوفه کاسته می‌شود (Jungers et al., 2020). هو و همکاران (Hu et al., 2021) با بررسی میزان ADF و NDF در شبدر برسیم در شرایط مختلف آبیاری، مشاهده کردند که میزان دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز در شرایط تنش افزایش یافت که اگرچه نشان از مقاوم شدن گیاه به تنش است؛ اما منجر به کاهش کیفت علوفه می‌شود. جانگرز و همکاران (Jungers et al., 2020) بیشتر بودن میزان NDF و ADF در کشت دیم نسبت به کشت آبی را به تفاوت در وزن ساقه و برگ و همچنین نسبت برگ به ساقه عنوان کردند. بینگول و همکاران (Bingol et al., 2007) نیز رابطه مستقیم و معنی‌داری بین شدت تنش خشکی و میزان غلظت ADF و NDF مشاهده کردند که به عبارتی با کاهش آب قابل‌دسترس گیاه کیفیت و میزان ماده خشک مصرفی کاهش پیدا می‌کند. جهان‌زاد و همکاران (Jahanzad et al., 2013) مشاهده کردند که با افزایش دور آبیاری در گیاه سورگوم میزان ADF و NDF کاهش معنی‌داری پیدا کرد. علاوه بر این کارمی و همکاران (Carmi et al., 2006) نتیجه گرفتند که بین افزایش دور آبیاری و افزایش محتوی لیگنین، ADF و NDF در شرایط تنش ضعیف همبستگی منفی وجود دارد.

ارزش غذایی نسبی

ارزش غذایی نسبی در هر دو سال آزمایش بعد از آبیاری متوسط با تشدید تنش کاهش یافت به‌طوری‌که بیشترین و کمترین ارزش غذایی نسبی به ترتیب در آبیاری متوسط (۱۵۳/۶ درصد) و تنش شدید (۱۲۸/۴ درصد) به دست آمد که ۲۵ درصد اختلاف داشتند. به‌طورکلی با افزایش میزان ADF و NDF از میزان RFV علوفه کاسته شد. با توجه به این‌که همبستگی منفی و معنی‌داری بین ADF و NDF و کیفیت علوفه گزارش شده است (Wróbel and Zielewicz, 2019)، بنابراین کاهش RFV هم‌زمان با افزایش NDF و ADF قابل‌انتظار بود. درواقع افزایش ارزش نسبی تغذیه‌ای علوفه منوط به افزایش ماده خشک قابل‌هضم و ماده خشک مصرفی علوفه است (Grev et al., 2017). پژوهشگران گزارش کردند که علوفه‌هایی با میزان RFV مابین ۱۵۱-۱۲۵ به‌عنوان علوفه عالی و بالاتر از ۱۵۱ به‌عنوان درجه‌ی یک در نظر گرفته می‌شوند (Rohweder et al., 1978). با توجه به جدول استاندارد کیفی علوفه، هرچند تنش موجب کاهش معنی‌دار RVF شد ولی هر دو تیمارهای تنش ضعیف و شدید منجر به تولید علوفه‌ای با درجه عالی (Premium) شد. پژوهشگران بیان داشتند که RFV یونجه

تحت تأثیر تنش کم‌آبی خیلی کم تا متوسط در چین اول کمتر یا برابر آبیاری کامل بود ولی در چین‌های دوم و سوم به‌طور معنی‌داری مقادیر بیشتری از آبیاری کامل داشتند. در این تحقیق بیان شد که این افزایش احتمالاً مربوط به توسعه آرام‌تر ساقه نسبت برگ‌ها در شرایط تنش‌های کم است. با در نظر داشتن رابطه کاملاً مستقیم RFV، ADF و NDF پژوهش فوق با نتایج این تحقیق در رابطه با بیشتر بودن این صفت‌ها در آبیاری متوسط نسبت به آبیاری زیاد همخوانی دارد (Minguo et al., 2021).

سرعت فتوسنتز

جدول ۵ نشان از عدم معنی‌داری اثرات ساده و متقابل سال با تیمارهای آزمایشی و معنی‌داری اثر ساده تنش کم‌آبی، روزهای اندازه‌گیری و اثر متقابل این دو عامل در سطح یک درصد بر سرعت فتوسنتز داشت. با توجه به شکل ۱، تغییرات سرعت فتوسنتز بعد از آبیاری اولیه تا زمان اولین آبیاری در آبیاری زیاد با افت ۱۸ درصدی همراه بود. بیشترین افت نرخ فتوسنتز (۲۶ درصد نسب به سطح قبل) مابین آبیاری متوسط و تنش ضعیف مشاهده شد. به عبارتی تعویق آبیاری تا تنش شدید موجب کاهش ۴۹ درصدی نرخ فتوسنتز نسبت به آبیاری زیاد شد که ۱۸ درصد آن در ۲۰ درصد اولیه رطوبت زراعی، ۶ درصد در ۲۰ درصد دوم، ۲۰ درصد در ۲۰ درصد سوم و ۵ درصد ۲۰ درصد چهارم بود.

پژوهشگران بیان داشتند تنش کم‌آبی در حد ۵۰ درصد ظرفیت زراعی موجب کاهش شدید نرخ فتوسنتز خالص می‌شود (Ma et al., 2001). تحقیقات دیگری نشان از کاهش همزمان هدایت روزنه‌ای و نرخ فتوسنتز با کاهش پتانسیل آب برگ داشت. از طرفی پژوهش دیگری کاهش فتوسنتز را به علتی به‌غیراز کاهش هدایت روزنه‌ای مربوط می‌دانست (Damour el al., 2008). همچنین گزارش شده است مقاومت مزوفیلی در بدترین حالت شاید به‌اندازه‌ی مقاومت روزنه‌ای باشد. به‌علاوه در بسیاری از تحقیقات غلظت CO_2 در اطراف رابیسکو در محدوده‌ی ۱۸۰ میکرو مول بر مول باقی مانده است (Grassi and Magnani, 2005). با توجه به توضیحات فوق به نظر می‌رسد محدودیت‌های متابولیکی حاصل از تنش کم‌آبی مانند غیرفعال شدن رابیسکو در کاهش نرخ فتوسنتز نقش مهم‌تری داشته باشند (MacFarlane et al., 2004).

هدایت روزنه‌ای

جدول ۵ مشخص‌کننده‌ی عدم معنی‌داری اثرات ساده و متقابل سال با تیمارهای آزمایشی و معنی‌داری اثر ساده تنش کم‌آبی و اثر متقابل تنش و روز اندازه‌گیری در سطح یک درصد بر هدایت روزنه‌ای بود. شکل ۲ نشان‌دهنده روند ملایم رو به کاهش هدایت روزنه‌ای تا تیمار آبیاری متوسط بود درحالی‌که با تعویق بیشتر آبیاری تا تنش ضعیف و شدید، روند کاهش شدیدتر شد.

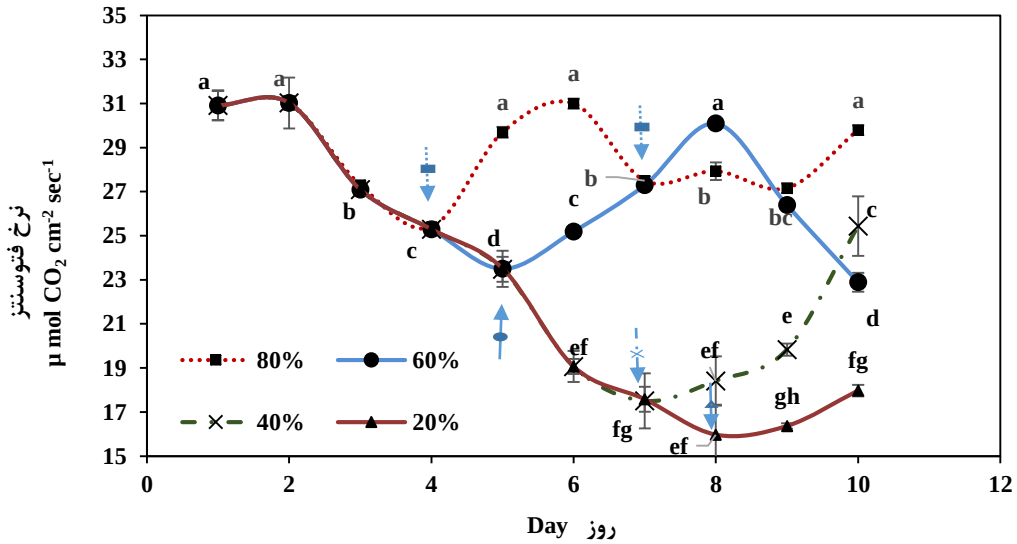
جدول ۵. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات فیزیولوژیک تحت تأثیر تنش کم‌آبی

Table 3. Analysis of variance for the effects of different treatments on the Physiological traits.

S.O.V	منابع تغییرات	df	سرعت فتوسنتز Photosynthesis rate	هدایت روزنه Stomatal conductance	شاخص سبزینگی SPAD index	غلظت کلروفیل a Chlorophyll a content	غلظت کلروفیل b Chlorophyll b content	دمای برگ Leaf temperature
Year (Y)	سال	1	0.07^{ns}	0.000002^{ns}	0.34^{ns}	0.0009^{ns}	0.00006^{ns}	4.48^{ns}
Year (Rep)	سال(تکرار)	4	6.54	0.00001	11.02	0.005	0.0022	18.7
Treatment (T)	تیمار	3	497.2**	0.001**	73.3*	1.34**	0.170**	16.7^{ns}
T × Y	سال×تیمار	3	0.15^{ns}	0.000005^{ns}	13.96^{ns}	0.002^{ns}	0.0018^{ns}	0.25^{ns}
R × T(Y)	تکرار×تیمار(سال)	12	1.06	0.000003	17.92	0.009	0.0044	4.87
Day (D)	روز	9	247.1**	0.0003^{ns}	55.98**	0.574**	0.047^{ns}	10.54^{ns}
Y × D	سال× روز	9	1.03^{ns}	0.000002^{ns}	8.05^{ns}	0.001^{ns}	0.0013^{ns}	0.44^{ns}
T × D	روز × تیمار	27	61.3**	0.0001**	11.14*	0.145**	0.024**	4.80**
D × T × Y	روز×تیمار×سال	27	1.73^{ns}	0.000003^{ns}	5.11^{ns}	0.0014^{ns}	0.001^{ns}	0.48^{ns}
Error	خطا	144	2.07	0.000005	8.79	0.0045	0.0009	2.02
CV (%)	ضریب تغییرات		5.64	7.44	5.70	5.06	7.17	4.46

ns: غیرمعنی‌داری. * و **: معنی‌داری به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد.

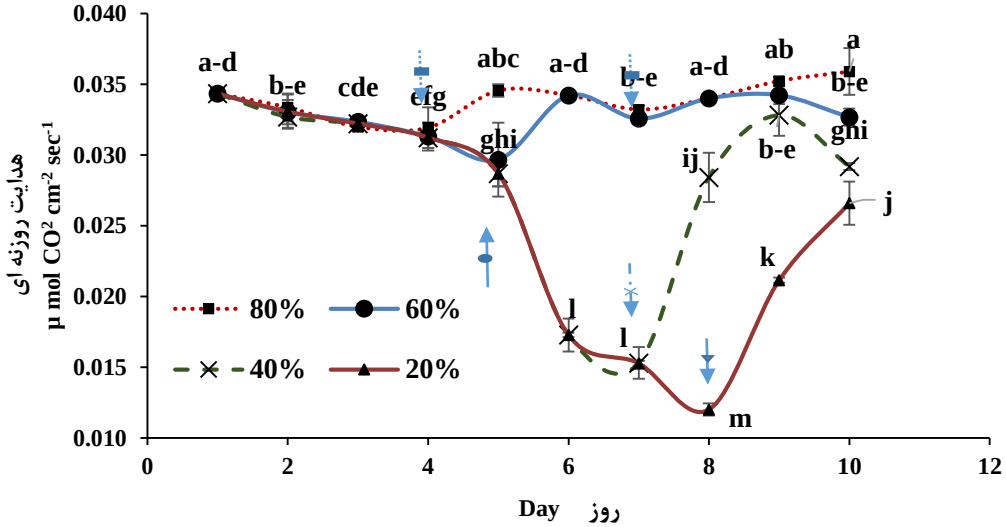
ns: not significant. * and **: significant at the 0.05 and 0.01 probability level, respectively.



شکل ۱. تغییرات نرخ فتوسنتز برگ شبدر ایرانی در ۱۰ روز اولیه تیمارهای مختلف رژیم آبیاری. علامت فلش (پیکان) مربوط به زمان انجام آبیاری در هر تیمار است.

Fig. 1. Changes in the photosynthesis rate of Persian clover leaves in the first 10 days of different irrigation regime treatments. The arrow indicates the time of irrigation in each treatment.

پس از آبیاری نیز سرعت بازگشت به شرایط اولیه در شرایط تنش ضعیف و شدید آرام‌تر بود. هنگامی‌که رطوبت خاک از ۶۰ درصد به ۴۰ درصد کاهش یافت، هدایت روزنه‌ای کاهش ۵۰ درصدی را نشان داد. از طرفی دیگر در تیمارهای آبیاری زیاد و متوسط، پس از آبیاری افزایش شدید هدایت روزنه‌ای قابل‌مشاهده بود.



شکل ۲. تغییرات هدایت روزنه‌ای برگ شبدر ایرانی در ۱۰ روز اولیه تیمارهای مختلف رژیم آبیاری. علامت فلش (پیکان) مربوط به زمان انجام آبیاری در هر تیمار است.

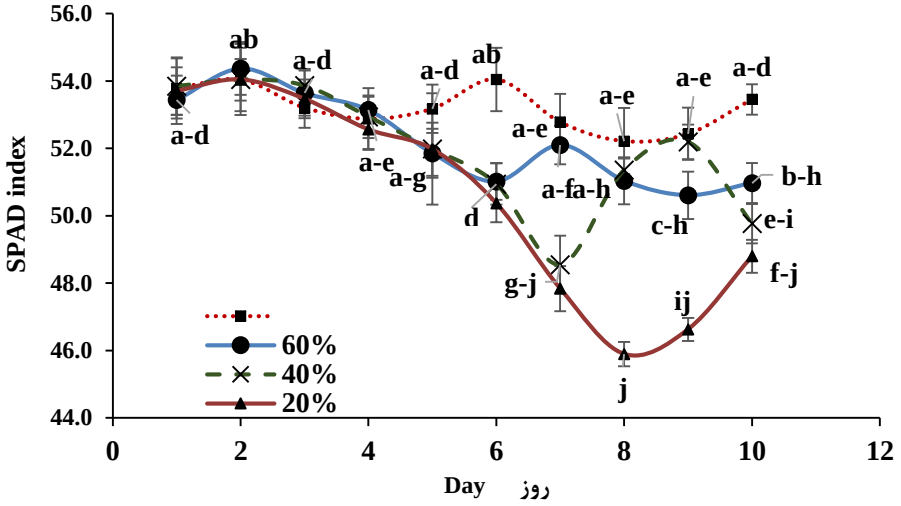
Fig. 2. Changes in stomatal conductance of Persian clover leaves in the first 10 days of different irrigation regime treatments. The arrow indicates the time of irrigation in each treatment.

با توجه به افزایش فواصل آبیاری تیمارهای تنش ضعیف و شدید، به نظر می‌رسد پس از آبیاری هدایت روزنه‌ای این تیمارها به سطح اولیه خود نرسد. در مقابل در تیمارهای آبیاری زیاد و متوسط روند به نسبت ثابتی با شیب ملایم

کاهش و افزایش مشاهده شد. بسته شدن روزنه¬ها به‌عنوان پاسخی به کاهش رطوبت در دسترس در گیاهان مختلفی مشاهده‌شده است (Addington et al., 2004; Lange et al., 1971; Lösch, 1979). از طرفی پژوهشگران دریافتند در گیاه لوبیا تا زمانی که روزنه به‌طور کامل بسته نشده باشد، همچنان آب حتی به‌صورت مایع، از طریق چسبندگی به دیواره سلولی خارج می‌شود (Pariyar et al., 2013).

شاخص سبزینگی

جدول ۵ نشان داد اثرات ساده و متقابل سال با تیمارهای آزمایشی بر شاخص سبزینگی معنی‌دار نیست. همچنین معنی‌داری اثر ساده تنش کم‌آبی، روزهای اندازه‌گیری و اثر متقابل این دو متغیر بر شاخص سبزینگی مشخص شد. روند کاهشی شاخص سبزینگی در پاسخ به تنش کم‌آبی با توجه به شکل ۳، قابل‌مشاهده بود. شاخص سبزینگی تنش شدید، ۱۵ درصد کمتر از میزان این شاخص تحت تیمار تنش شدید بود. داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد شاخص سبزینگی تحت تأثیر تنش ضعیف بعد از آبیاری اختلاف معنی‌داری با آبیاری زیاد نداشت هرچند که این مقدار کمتر بود. در پژوهش‌های دیگر مشخص شد که در سویا کاهش درصد حجمی آب به نصف زمان آبیاری موجب کاهش حدود ۱۰ درصد شاخص سبزینگی می‌شود (Oue et al., 2021).



شکل ۳. تغییرات میزان شاخص سبزینگی برگ شبدر ایرانی در ۱۰ روز اولیه تیمارهای مختلف رژیم آبیاری. علامت فلش (پیکان) مربوط به زمان انجام آبیاری در هر تیمار است.

Fig. 3. Changes in SPAD index of Persian clover leaves in the first 10 days of different irrigation regime treatments. The arrow indicates the time of irrigation in each treatment.

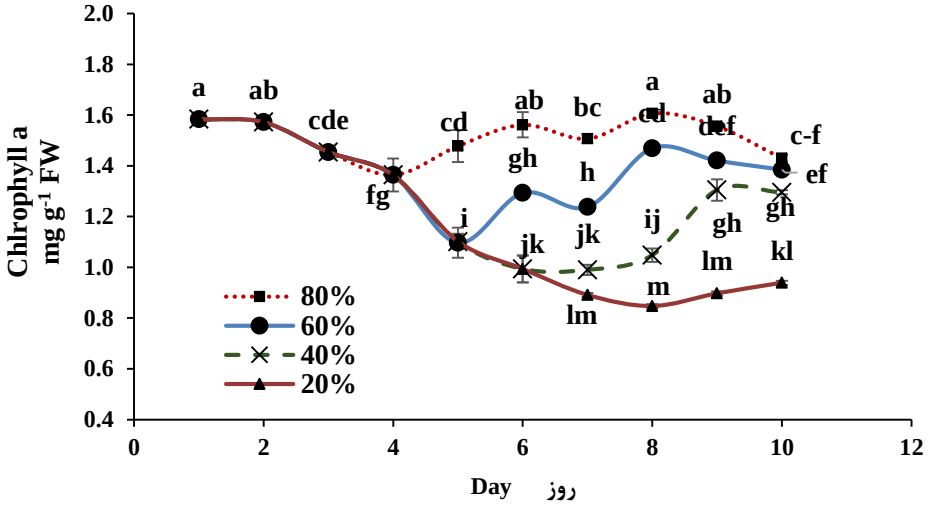
محتوی کلروفیل a و b

جدول ۵ نشان از عدم معنی‌داری اثرات ساده و متقابل سال با تیمارهای آزمایشی بر محتوی کلروفیل a و b و معنی‌داری اثر ساده تنش کم‌آبی و اثر متقابل این دو متغیر در سطح یک درصد بر محتوی کلروفیل a و b و اثر ساده روز اندازه‌گیری بر کلروفیل a داشت. شکل ۴ نشان داد که غلظت کلروفیل a تحت تأثیر کاهش رطوبت در دسترس گیاه قرار می‌گیرد. این غلظت پس از زمان آبیاری اولیه در تیمارهای آبیاری زیاد و متوسط به ترتیب ۱۴ و ۳۰ درصد نسبت به مقدار اندازه‌گیری شده در روز اول کاهش یافت. زمانی رطوبت در دسترس خاک ۴۰ درصد تا ۲۰ درصد ظرفیت زراعی بود، شکل ۴، عدم واکنش سریع غلظت کلروفیل a به آبیاری را نشان می‌دهد.

برخلاف کلروفیل a، کلروفیل b واکنش سریع‌تری نسبت به آبیاری داشت و آبیاری در این سطوح موجب افزایش معنی-دار پس از گذشت یک روز شد. همچنین میزان کلروفیل b کاهش معنی‌داری با تعویق آبیاری مابین سطوح تنش ضعیف و شدید در روزهای ششم و هشتم نداشت. از طرفی بین سطوح ۸۰، ۶۰ و ۴۰ کاهش کلروفیل b معنی‌دار بود (شکل ۵).

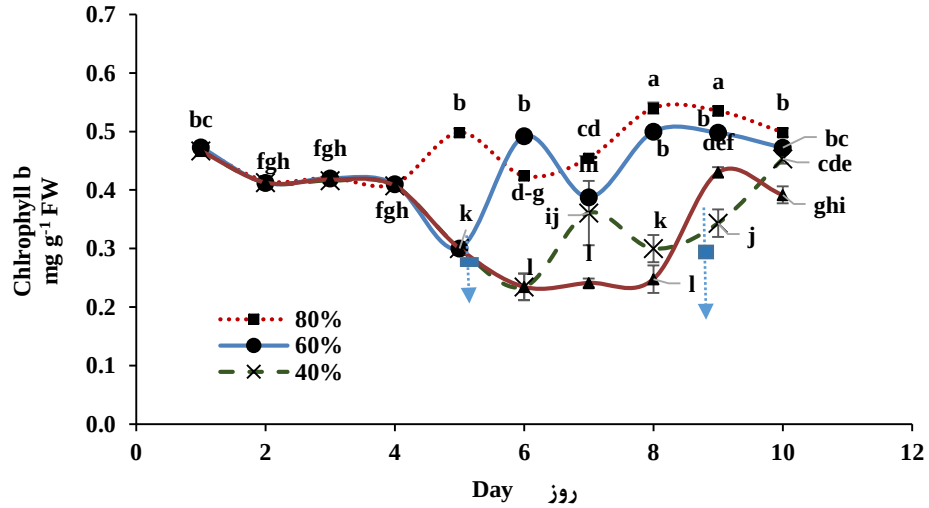
کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a و b در اثر تنش کم‌آبی در ارقام شبدر سفید نیز مشاهده‌شده است (Ghaffari et al., 2019). در پژوهش ایشان تنش کم‌آبی در سطح تخلیه ۶۰ و ۸۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی موجب کاهش به ترتیب ۲۰ و ۲۵ میزان کلروفیل a و حدود ۳۰ و ۴۰ درصدی

کلروفیل b در یک رقم و عدم کاهش معنی‌دار در رقم دیگر شد. پژوهشگرانی دیگری دریافتند مجموع محتوی کلروفیل برگ در یونجه پس از ۷، ۱۴ و ۲۱ روز قطع آبیاری، هر بار کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند (Demirkol, 2021).



شکل ۴. تغییرات غلظت کلروفیل a برگ شبدر ایرانی در ۱۰ روز اولیه تیمارهای مختلف رژیم آبیاری. علامت فلش (پیکان) مربوط به زمان انجام آبیاری در هر تیمار است.

Fig. 4. Changes in the concentration of chlorophyll a in Persian clover leaves in the first 10 days of different irrigation regime treatments. The arrow indicates the time of irrigation in each treatment.



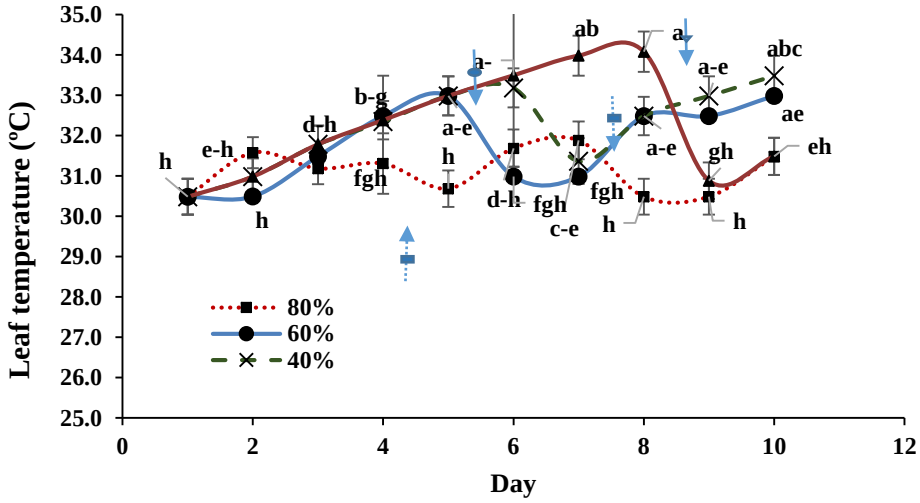
شکل ۵. تغییرات غلظت کلروفیل b برگ شبدر ایرانی در ۱۰ روز اولیه تیمارهای مختلف رژیم آبیاری. علامت فلش (پیکان) مربوط به زمان انجام آبیاری در هر تیمار است.

Fig. 5. Changes in chlorophyll b concentration of Persian clover leaves in the first 10 days of different irrigation regime treatments. The arrow indicates the time of irrigation in each treatment.

دمای برگ

داده‌های حاصل از جدول ۵ مشخص کرد که تنها اثر متقابل تنش کم‌آبی و روز اندازه‌گیری بر دمای برگ اثر معنی‌داری (در سطح یک درصد) دارد. با توجه به شکل ۶، مشخص شد که دمای برگ اندازه‌گیری شده با دستگاه لایکور ۳۰/۵ تا ۳۱/۹ درجه سانتی‌گراد در تیمارهایی که در ظرفیت زراعی ۸۰ درصد، آبیاری می‌شدند نوسان داشت که این مقدار در تیمار آبیاری در ۲۰ درصد تا ۳۴/۱ درجه سانتی‌گراد هم بالا

رفت و بعد از آبیاری سریعاً به محدوده ۳۱ درجه سانتی‌گراد بازگشت. به‌عبارت‌دیگر در هشت روز از شروع اندازه‌گیری دمای برگ تیمار آبیاری در ۲۰ درصد ظرفیت زراعی حدود ۳/۵ درجه سانتی‌گراد بالا رفت؛ ولی یک روز پس آبیاری بلافاصله ۳/۵ درجه کاهش پیدا کرد. به نظر می‌رسد این مسئله مربوط نقش مستقیم آب در خنک کردن برگ باشد. تحقیقاتی بر ارقام شبدر سفید مشخص کرد که واکنش سریع دمای کانوپی و روزنه‌های به آبیاری پس از تنش می‌تواند در مقاومت به تنش کم‌آبی بسیار تأثیرگذار باشد (Egan et al., 2021).



شکل ۶. تغییرات دمای برگ شبدر ایرانی در ۱۰ روز اولیه تیمارهای مختلف رژیم آبیاری. علامت فلش (پیکان) مربوط به زمان انجام آبیاری در هر تیمار است.

Fig. 6. Changes in Persian clover leaf temperature in the first 10 days of different irrigation regime treatments. The arrow indicates the time of irrigation in each treatment

عملکرد ماده خشک

بر اساس داده‌های جدول تجزیه واریانس تنش کم‌آبی تأثیر معنی‌دار و مشابهی در هر دو سال بر عملکرد ماده خشک شبدر ایرانی داشت (جدول ۳). مشخصات فیزیک و شیمیایی خاک و داده‌های هواشناسی در جداول یک و دو نشان‌دهنده وجود اختلاف اندک در هر دو سال بودند که این مسئله می‌تواند علت اصلی روند مشابه صفات در دو سال باشد. آبیاری در سطوح ۸۰ و ۶۰ درصد آب در دسترس گیاه، بدون اختلاف معنی‌داری بالاترین عملکرد را داشتند. بر اساس اندازه‌گیری‌های انجام‌شده ۵۰ ± ۲۶۵۰ کیلوگرم از عملکرد هر تیمار مربوط به چین اول شبدر است. زمانی که آبیاری تا پایین آمدن آب موجود در خاک به ۴۰ و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی به تعویق افتاد عملکرد ماده خشک نسبت ۸۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش ۱۹ و ۳۶ درصدی به‌طوری معنی‌داری نشان داد (جدول ۴). پژوهشگران بیان کردند آبیاری در ۴۰ درصد ظرفیت زراعی موجب کاهش تقریبی ۳۴ درصدی عملکرد شبدر قرمز می‌شود (Staniak, 2019). در پژوهشی دیگر کاهش حجم آبیاری به نصف موجب کاهش ۳۰ تا ۳۵ درصدی عملکرد ماده خشک شبدر ایرانی نسب به آبیاری کامل شد و کاهش ۲۵ درصدی حجم آبیاری در برخی اکوتیپ‌ها موجب کاهش معنی‌دار عملکرد نشد (Balazadeh et al., 2021). بر اساس همبستگی محاسبه‌شده بین میانگین ۱۰ روزه‌ی سرعت فتوسنتز با عملکرد علوفه‌ی هر تیمار (داده‌ها نشان داده نشده) ضریب همبستگی بالا و معنی‌دار مشاهده شد (۹۱ درصد) که نشان نقش مهم فتوسنتز در عملکرد نهایی بود.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که سرعت فتوسنتز و سایر صفات فیزیولوژیک شبدر ایرانی به کاهش رطوبت در دسترس خاک واکنش نشان می‌دهند. آبیاری پس از رسیدن رطوبت در دسترس خاک به ۶۰ درصد موجب بازگشت نسبتاً سریع به مقدار اولیه، در اکثر صفات فیزیولوژیک شد. عملکرد علوفه نیز در تیمارهای آبیاری در ۸۰ درصد و ۶۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشت. زمانی که رطوبت در دسترس خاک به ۴۰

درصد رسید صفات فیزیولوژیک کاهش بیشتری نسبت به قبل از خود نشان دادند. به نظر می‌رسد که برخی از خسارت بر صفات فیزیولوژیک غیرقابل‌جبران باشند. به حدی که درنهایت منجر به افت عملکرد یا کاهش کیفیت علوفه‌ی شبدر ایرانی می‌شوند. درنهایت انجام آبیاری در سطوح بیش از ۶۰ درصد آب در دسترس با در نظر گرفتن کاهش غیر معنی‌دار دودرصدی عملکرد علوفه و بهتر بودن کیفیت علوفه نسبت به سطح ۸۰ درصد (حدود ۱/۵ درصد الیاف نامحلول و ۱۱ درصدی ارزش غذایی) با توجه شرایط آبی کشور برای شبدر لازم به نظر نمی‌رسد.

منابع

Aaltonen, H., Lindén, A., Heinonsalo, J., Biasi, C., Pumpanen, J., 2017. Effects of prolonged drought stress on Scots pine seedling carbon allocation. Tree Physiology. 37, 418-427. https://doi.org/10.1093/treephys/tpw119

Abbasi, M., Hassanzadeh, A., Mahdipour, A., Anahid, S., Safari, S., 2019. Forage yield in some Iranian wild *Trifolium* genetic resources under different climatic and irrigation conditions. Journal of Agricultural Science and Technology. 21, 993- 1004. https://jast.modares.ac.ir/article-23-16639-en.html

Abbasi, M., Mokhtarpour, H., Zamaniyan, M., Mahdipour, A. 2022. Investigation of forage production in some cultivated and wild annual clovers using green water in semi-humid temperate regions of Iran', Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 30, 133-144. [In Persian]. https://doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2022.358581.1417

Addington, R.N., Mitchell, R.J., Oren, R., Donovan, L.A., 2004. Stomatal sensitivity to vapor pressure deficit and its relationship to hydraulic conductance in *Pinus palustris*. Tree Physiology. 24, 561–569. https://doi.org/10.1093/treephys/24.5.561

Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal. 23, 112-121.

Balazadeh, M., Zamanian, M., Golzardi., F., Torkashvand, A. M., 2021. Effects of limited irrigation on forage yield, nutritive value and water use efficiency of Persian clover (*Trifolium Resupinatum*) compared to berseem clover (*Trifolium alexandrinum*). Communications in Soil Science and Plant Analysis. 52, 1927-1942. https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1900228

Berrada, A., 2005. Alfalfa response to water deficit using subsurface drip irrigation. Colorado State University. Agricultural experiment station. Technical Bulletin TB 05 – 01 Colorado State University., Ft. Collins, Co

Bingol, N.T., Karsli, M.A., Yilmaz I.H., Bolat D., 2007. The effects of planting time and combination on the nutrient composition and digestible dry matter yield of four mixtures of vetch varieties intercropped with barely. The Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 31, 297-302.

Carmi, A., Aharoni, Y., Edelstein, M., Umiel, N., Hagiladi, A., Yosef, E., Nikbachat, M., Zenou, A., Miron, J., 2006. Effects of irrigation and plant density on yield, composition and in vitro digestibility of a new forage sorghum variety, Tal, at two maturity stages. Animal Feed Science and Technology. 131, 120-132.

Damour, G., Vandame, M., Urban, L., 2008. Long-term drought modifies the fundamental relationships between light exposure, leaf nitrogen content and photosynthetic capacity in leaves of the lychee tree (*Litchi chinensis*). Journal of Plant Physiology. 165, 1370-8. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.10.014

Demirkol, G., 2021. PopW enhances drought stress tolerance of alfalfa via activating antioxidative enzymes, endogenous hormones, drought related genes and inhibiting senescence genes. Plant Physiology and Biochemistry. 166, 540-548. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.06.036

Ebrahimi-Sborezi, H., Modarres-Sanavy, S.A.M., Baghbani-Arani, A., 2021. Assessment of morpho-physiological and quantitative and qualitative yield of Peppermint (*Mentha piperita* L.) under different irrigation regimes and application of different nitrogen fertilizer. Environmental Stress in Crop Science. 14, 425-437. [In Persian]. https://doi.org/10.22077/escs.2019.2893.1744

Egan, L., Hofmann, R., Nichols, S., Hadipurnomo, J., Hoyos-Villegas, V., 2021. Transpiration Rate of White Clover (*Trifolium*

repens L.) Cultivars in Drying Soil. Frontiers in Plant Science. 12, 1-14. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.595030

Ghaffari, A., Akram, N.A., Ashraf, M., Ashrif, Y., Aadiq, M., 2019. Thiamin-induced variations in oxidative defense processes in white clover (*Trifolium repens* L.) under water deficit stress,. Turkish Journal of Botany. 43, 5. https://doi.org/10.3906/bot-1710-34

Grassi, G., Magnani, F., 2005. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. Plant, Cell & Environment. 28, 834–49. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01333.x

Grev, A.M., Wells, M.S., Samac, D.A., Martinson, K.L., Sheaffer, C.C., 2017. Forage Accumulation and Nutritive Value of Reduced Lignin and Reference Alfalfa Cultivars. Agronomy Journal. 109, 2749-2761. https://doi.org/10.2134/agronj2017.04.0237

Heidarzadeh, A., Modarres-Sanavy, S.A.M., Mokhtassi-Bidgoli, A. 2021. Investigate different nutritional regimens on some forage quantitative and qualitative traits of *Dracocephalum kotschyi* Boiss under water deficit stress. Iranian Journal of Field Crop Science. 52, 15-27. [In Persian]. https://doi.org/10.22059/IJFCS.2020.292093.654654

Heidarzadeh, A., Modarres-Sanavy, S.A.M., Mokhtassi-Bidgoli, A., 2022. Changes in yield and essential oil compositions of *Dracocephalum kotschyi* Boiss in response to azocompost, vermicompost, nitroxin, and urea under water deficit stress. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 22, 896–913. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00700-z

Hu, Y., Kang, S., Ding, R., Zhao, Q., 2021. A crude protein and fiber model of alfalfa incorporating growth age under water and salt stress. Agricultural Water Management. 255, 107037. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107037

Jafari, A.A., Connolly, V., Frolich, A., Walsh, E.K., 2003. A note on estimation of quality in perennial ryegrass by near infrared spectroscopy. Irish Journal of Agricultural and Food Research. 42, 293-299.

Jahanzad, E., Jorat, M., Moghadam, H., Sadeghpour, A., Chaichi, M.R., Dashtaki, M., 2013. Response of a new and a commonly grown forage sorghum cultivar to limited irrigation and planting density. Agricultural Water Management. 117, 62-69. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.11.001

Jungers, J. Cherney, J., Martinson, K. Jaqueth, A. Sheaffer, C., 2020. Forage nutritive value of modern alfalfa cultivars. Crop Forage Turfgrass Manag. 6, 20076. https://doi.org/10.1002/cft2.20076

Karimi, H., 1996. Plant Physiology. University of Tehran Press. pp. 105-114. [In persian].

Lange, O.L., Lösch, R., Schulze, E.D., Kappen, L., 1971. Responses of stomata to changes in humidity. Planta. 100, 76–86. https://doi.org/10.1007/BF00386887

Lithourgidis, A.S., Vaslakoglou, I.B., Dhima, K.V., Dordas, C.A., Yiakoulaki, M. D., 2006. Forage yield and quality of common vetch mixtures with oat and triticale in two seeding ratios. Field Crops Reserch. 99, 106-113. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.03.008

Lösch, R., 1979. Stomatal responses to changes in air humidity. In: Sen, D.N. (Ed.), Structure, Function and Ecology of Stomata. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, Dehra Dunn, India. 189–216.

Ma, Q., Behboudian, M.H., Turner, N.C., Palta, J.A., 2001. Gas exchange by pods and subtending leaves and internal recycling of CO2 by pods of chickpea (*Cicer arietinum* L.) subjected to water deficits. Journal of Experimental Botany. 52, 123–131. https://doi.org/10.1093/jexbot/52.354.123

MacFarlane, C., White, D.A., Adams, M.A., 2004. The apparent feedforward response to vapour pressure deficit of stomata in droughted, field-grown *Eucalyptus globulus* Labill. Plant, Cell & Environment, 27, 1268–80. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01234.x

Markovi´c, J., Petrovi´c, M., Terzi´c, D., Vasi´c, T., Kosti´c, I., Štrbanovi´c, R., Grubi´c, G., 2019. Protein fractions as influenced by cultivars, stage of maturity and cutting dates in alfalfa (*Medicago* sativa L). Legume Research. 1, 46-51. https://doi.org/10.18805/LR-479

McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G., 2011. Animal Nutrition (7thed). Person Education limited, 685 Pp.

Minguo, L., Zikui, W., Le, M., Rui, X., Huimin,.,2021. Effect of regulated deficit

irrigation on alfalfa performance under two irrigation systems in the inland arid area of midwestern China. Agricultural Water Management. (248) 106764. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.106764

Naveed, M., Ditta, A., Ahmad, M., Mustafa, A., Ahmad, Z., Conde-Cid, M., Tahir, S., Shah, S.A.A., Abrar, M.M., Fahad, S., 2021. Processed animal manure improves morphophysiological and biochemical characteristic of Brassica napus L. under nickel and salinity stress. Environmental Science and Pollution Research. 385, 114816. https://doi.org/10.1007/s11356-021-14004-3

Nematollahi, D., Eisvand, H. R., Modaerrs Sanavy, S. A. M., Akbari, N., Ismaili, A., 2020. Effects of low irrigation on yield quantity and quality of clover species under high input management conditions', Iranian Journal of Field Crop Science, 51, pp. 47-57. [In Persian]. https://doi.org/10.22059/ijfcs.2019.251696.654444

Nikou, Sh., Pouryousef Miandoab., M., Hassanzadeh Gorttape, A., 2014. Evaluation of annual clover ecotypes by using drought tolerance indices. Journal of Crop Ecophysiology. 8, 375-393. [In Persian].

O'Brien, M.J., Philipson, C.D., Tay, J., Hector, A. 2013. The influence of variable rainfall frequency on germination and early growth of shade-tolerant dipterocarp seedlings in Borneo. PLoS ONE. 8, e70287. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070287

Oue, H., Mon, M.M., Irsyad, F., Utami, A.S., Zaw, Y., 2021. Stomatal and photosynthetic responses of soybean with two types of mulch under different soil water conditions. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Volume 1059, The 4th International Conference on Sustainability Agriculture and Biosystem. Online. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1059/1/012038

Pariyar, S., Eichert, T., Goldbach, E.H., Hunsche, M., Burkhardt, J., 2013. The exclusion of ambient aerosols changes the water relations of sunflower (*Helianthus annuus*) and bean (*Vicia faba*) plants, Environmental and Experimental Botany. 88, 43-52. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.12.031

Rohweder, D.A., Barnes, R.F., Jorgensen, N., 1978. Proposed hay grading standards based on laboratory analyses for evaluating quality. Journal of Animal Sciences. 47, 747–759.

Rouphael, Y, Cardarelli, M., Schwarz, D., Franken, P., Colla, G., 2012. Effects of drought on nutrient uptake and assimilation in vegetable crops. In: Aroca R (ed) Plant responses to drought stress. Springer, Berlin, 171-195. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_7

Sadeghi, H., Khani, K., 2012. Effects of different drought and salinity stress levels on some morphological characteristics and proline content of annual burr medics (*Medicago polymorpha* L.). Iranian Dryland Agronomy Journal. 1, 1-13. [In Persian]. https://doi.org/10.22059/IJHS.2018.264753.1507

Spinedi, N., Storb, R., Aranda, E., Romani, F., Svriz, M., Varela, S.A., Moreno, J.E., Fracchia, S., Cabrera, J., Batista-García, R.A., Ponce de León, I., Scervino, J.M., 2021. ROS-Scavenging Enzymes as an Antioxidant Response to High Concentration of Anthracene in the Liverwort Marchantia polymorpha L. Plants. 10, 1478. https://doi.org/10.3390/plants10071478

Staniak, M., 2019. Changes in yield and nutritive value of red clover (*Trifolium pratense* L.) and Festulolium (Festulolium braunii (K. Richt) A. Camus) under drought stress. Agricultural and Food Science. 28, 27–34. https://doi.org/10.23986/afsci.73282

Wróbel, B., Zielewicz, W., 2019. Nutritional value of red clover (*Trifolium pratense* L.) and birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) harvested in different maturity stages. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering. 64, 14-19.

Zamanian, M., 2005. The effect of planting season on forage production of clover species. Seed and Plant. 21, 159-173. [In Persian].