

تجزیه ژنتیکی برخی خصوصیات فیزیولوژیک از طریق مطالعه جوامع پلی کراس *Dactylis glomerata* در شرایط عادی و تنش خشکی

بهنام حسینی، محمد مهدی مجیدی* و آقا فخر میر لوحی
گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۶/۱۵)

چکیده:

جوامع پلی کراس روش مناسبی برای مطالعه ژنتیکی و برآورد جزء توارث پذیر واریانس ژنتیکی صفات کمی محسوب می شوند. در این مطالعه پارامترهای ژنتیکی برخی صفات فیزیولوژیک و واکنش این صفات به شرایط کم آبیاری در گونه علف باغ (*Dactylis glomerata*) مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۲۵ فامیل نیمه خواهری حاصل از پلی کراس ۲۵ ژنوتیپ والدی در دو محیط رطوبتی (شاهد و تنش خشکی) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر عملکرد علوفه خشک (در سه چین) معنی دار بود. بین فامیل های مورد بررسی برای همه صفات به جز نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید و محتوای آب نسبی برگ اختلاف معنی دار وجود داشت. تنش خشکی موجب افزایش مقدار صفات نسبت کلروفیل a/b و پرولین نسبت به شرایط نرمال گردید در حالی که سایر صفات در شرایط تنش خشکی کاهش یافتند. ضرایب تنوع ژنتیکی صفات در شرایط نرمال از ۴/۵ تا ۳۱/۰۸ درصد و در شرایط تنش خشکی از ۵/۷ تا ۶۶/۲۷ درصد متغیر بود که حاکی از وجود تنوع ژنتیکی گسترده در مواد ژنتیکی مورد بررسی بود. بیشترین میزان وراثت پذیری خصوصی در شرایط عدم تنش مربوط به کلروفیل کل (۷۸ درصد) و کمترین آن مربوط به محتوای آب نسبی برگ (۲۹ درصد) بود. همچنین در شرایط تنش خشکی بیشترین و کمترین میزان وراثت پذیری خصوصی به ترتیب مربوط به پرولین (۶۶ درصد) و محتوای آب نسبی (۱۷ درصد) بود. نتایج نشان می دهد با توجه به بالا بودن وراثت پذیری خصوصی صفات پرولین و کلروفیل b گزینش از طریق این صفات سریعتر بتواند منجر به توسعه ارقام متحمل به خشکی گردد.

کلمات کلیدی: تنش خشکی، علف باغ، وراثت پذیری خصوصی، پرولین، کلروفیل

مقدمه:

گراس های تتراپلوئید علوفه ای - مرتعی چند ساله و دگرگشن است که تعداد کروموزوم پایه در آن هفت ($x=7$) می باشد و بیشتر به صورت خودناسازگار است (Frandsen, 1917; Trollh, 1930). این گونه دارای ارزش علوفه ای بالا و تولید مناسب بوده و به اکثر مناطق گرمسیری دنیا با اقلیم های مختلف سازگاری دارد (Bretagnolle and Thompson, 2001). همچنین نسبت به سایر گراس های علوفه ای خاص نواحی گرمسیری، به شرایط خشک

گراس های علوفه ای از مهم ترین گیاهان علوفه ای - مرتعی هستند که به عنوان ماده اولیه در تامین مواد پروتئینی و لبنی در حفظ و سلامت و امنیت غذایی و به لحاظ تولید علوفه، احداث چراگاه، حفاظت و جلوگیری از فرسایش خاک اهمیت زیادی دارند (مقدم، ۱۳۷۷؛ شهبازیان و ایران نژاد، ۱۳۸۴). علف باغ (*Orachard grass*) با نام علمی *Dactylis glomerata* از

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: majidi@cc.iut.ac.ir

ترین و گسترده‌ترین اسمولیتی است که در بسیاری از گیاهان به عنوان پاسخ طبیعی و ذاتی گیاه به تنش‌های اسمزی و خشکی تولید می‌شود (Staden *et al.*, 1999). در مراحل اولیه تنش کم آبی چندین اسید آمینه افزایش می‌یابد که با ادامه کم آبی فقط اسید آمینه پرولین بیشتر تجمع و ذخیره می‌شود (Rajinder, 1987). اگرچه پرولین در همه اندام‌های گیاه کامل در طی تنش خشکی تجمع می‌یابد ولی سریع‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد (حیدری شریف آباد، ۱۳۷۹).

برای تجمع پرولین در گیاه در هنگام تنش خشکی دلایل مختلفی ارائه شده است. برخی آن را به علت اثر تنظیمی ABA بر فرآیندهای نوری در متابولیسم پرولین می‌دانند (Seraj and Sinclair, 2002). در شرایط تنش خشکی، ساخت ABA در سلول‌های محافظ و مزوفیل افزایش می‌یابد. با افزایش میزان ABA، پتاسیم از سلول محافظ خارج و کلسیم جای آن را می‌گیرد. این فرایند بسته شدن روزنه‌ها را به دنبال دارد (Radin and Hendrix, 1988). برخی محققان تجمع پرولین را به وجود ترکیبات پر انرژی حاصل از فتوسنتز ربط می‌دهند که سبب تحریک سنتز پرولین می‌شود (Staden *et al.*, 1999). به طوری که در اثر تنش‌های رطوبتی و شوری بر میزان اسیدهای آمینه افزوده می‌شود و افزایش اسید آمینه پرولین از سایرین بیشتر است و همچنین محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یابد (Mationn *et al.*, 1989). محتوای آب نسبی برگ یک برآورد آسان، استاندارد و کارآمد وضعیت آب برگ در خصوص اجتناب از آبیگری می‌باشد. همچنین این صفت محتوای آب حجمی را اندازه‌گیری و اثر تعدیل اسمزی روی محتوای آب برگ را بیان می‌کند (Jiang and Huang, 2001). تنش خشکی در بسیاری از گیاهان موجب کاهش محتوای آب نسبی برگ، بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه کم شدن جذب دی‌اکسید کربن و کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Allen *et al.*, 1971).

در شرایط کم‌آبایی به گراس‌هایی نیاز است که قادر باشند دوره‌های طولانی کمبود آب را بگذرانند به طوری که پس از طی این دوره بتوانند به رشد خود ادامه داده و از طرفی کیفیت آن‌ها کم نشود (Blum, 2011). به همین دلیل از موضوعات مهم در برنامه‌های اصلاحی بهبود عملکرد و افزایش مقاومت

و کمبود آب متحمل‌تر است (Santen and Sleper, 1996) ولی نیازمند بهبود ژنتیکی از طریق برنامه‌های اصلاحی است. گیاهان در طول دوره رشد در معرض انواع تنش‌های زنده (آفات و بیماری‌ها) و تنش‌های غیر زنده (خشکی، شوری و گرما) قرار داشته که آن‌ها را وادار به واکنش‌های فیزیولوژیک می‌نمایند (Tas and Tas, 2007). خشکی به عنوان کمبود رطوبت خاک که موجب کاهش رشد گیاه شود تعریف می‌شود. البته این تعریف نشان دهنده وضع کیفی آب قابل استفاده در خاک بوده و وضع آب داخل گیاه در نظر گرفته نشده است. لذا از نقطه نظر زراعی، تنش خشکی شرایطی است که آب از نظر مقدار و توزیع به اندازه‌ای نیست تا گیاه بتواند عملکرد بالقوه خود را تولید کند و این پدیده موجب آسیب به گیاه و محدودیت در بروز پتانسیل ژنتیکی عملکرد می‌شود (Blum, 2011). به خوبی مشخص شده است که تاثیر تنش آبی بر رشد و عملکرد گیاه بستگی به ژنوتیپ گیاه و شرایط جوی موثر بر تبخیر و تعرق دارد (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). تغییر صفات فیزیولوژیک از مهم‌ترین مکانیسم‌ها برای سازگاری گیاه به شرایط تنش خشکی است (Liu *et al.*, 2011). گیاهان هنگامی که تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند به شرایط تنش خشکی پاسخ می‌دهند و با القای پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی به این شرایط سازگاری می‌یابند (Wang and Huang, 2004). برای مثال تنش خشکی باعث می‌شود دستگاه فتوسنتز گیاه صدمه ببیند در نتیجه موجب کاهش کلروفیل در گیاه نسبت به شرایط عدم تنش می‌شود (Fu and Huang, 2001). محتوای کلروفیل از مهم‌ترین فاکتورها برای تعیین ظرفیت فتوسنتز در طول زندگی گیاه می‌باشد. کاهش محتوای کلروفیل از واکنش‌های گیاه در مواجهه با تنش خشکی است (Bayat *et al.*, 2009).

از راهکارهای مناسب گیاهان در پاسخ به تنش خشکی، افزایش مواد محلول و فعال اسمزی است. در شرایط تنش، گیاه به منظور ادامه جذب آب، پتانسیل اسمزی خود را از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله اسیدهای آمینه، قندها، برخی یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها کاهش می‌دهد و یا به عبارتی تنظیم اسمزی صورت می‌گیرد. پرولین احتمالاً رایج

است که کشور ما به‌ویژه در سال‌های اخیر با آن روبرو می‌باشد. در این راستا اصلاح و بهبود گیاهان علوفه‌ای نظیر علف باغ که از کیفیت علوفه‌ای بالایی نیز برخوردارند می‌تواند گام موثری در جهت تامین نیاز علوفه کشور باشد. بر این اساس این پژوهش به منظور بررسی پارامترهای ژنتیکی و تنوع ژنتیکی بین فامیل‌های نیمه خواهری علف باغ از نظر برخی خصوصیات فیزیولوژیک در دو شرایط عدم تنش و تنش خشکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش در سال ۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف‌آباد اجرا گردید. مواد ژنتیکی مورد مطالعه تعداد ۲۵ فامیل نیمه خواهری (Half-sib family) علف باغ بودند که از پلی‌کراس ۲۵ ژنوتیپ والدی حاصل‌گزینش از درون جمعیت‌های مختلف از گونه علف باغ *Dactylis glomerata* حاصل شده بودند (جدول ۱). این ژنوتیپ‌های والدی پس از بررسی بیشتر طی ارزیابی کلونی (محمدی و همکاران، ۱۳۸۹) در خزانه پلی‌کراس تلاقی داده شدند و سپس بذور حاصله (فامیل‌های نیمه‌خواهری) در اسفندماه ۱۳۹۰ در مزرعه کشت شدند. این پژوهش در دو محیط رطوبتی مجزا (عدم تنش و تنش خشکی) انجام شد. در هر محیط رطوبتی تعداد دو تکرار (جمعاً چهار تکرار) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی استفاده شد. از هر جمعیت نیمه خواهری در هر واحد آزمایشی ۲ خط به طول ۴ مترکاشته شد که فاصله بین ردیف‌ها ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۴۰ سانتی‌متر بود و در هر پلات ۲۰ بوته مورد ارزیابی قرار گرفت. طول و عرض هر تکرار به ترتیب ۲۵ و ۵ متر بود. در هر پلات غیر از دو بوته حاشیه (طرفین ردیف) بقیه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

محیط‌های رطوبتی شامل محیط بدون تنش رطوبتی با اعمال ضریب MAD (Management allowed depletion) برابر با ۵۰ درصد و محیط تنش رطوبتی با اعمال ضریب MAD برابر با ۹۰ درصد بودند. این ضریب متوسط کسری از

ژنوتیپ‌ها به خشکی می‌باشد (Blum, 2011). اصلاح ژنتیکی گراس‌ها از لحاظ صفات عملکرد و کیفیت نیازمند داشتن اطلاعات کافی در مورد تنوع ژنتیکی و پارامترهای ژنتیکی و چگونگی القای پاسخ‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک به عنوان معیاری جهت انتخاب تحت شرایط تنش می‌باشد (احمدی و سی و سه مرده، ۱۳۸۳). جوامع پلی‌کراس روش مناسبی برای مطالعه ژنتیکی و برآورد جزء توارث‌پذیر واریانس ژنتیکی صفات کمی محسوب می‌شوند. مطالعات در این زمینه در گراس‌های علوفه‌ای بسیار محدود بوده و مطالعات موجود به بررسی توارث‌پذیری عمومی صفات از طریق جوامع طبیعی پرداخته‌اند. به عنوان مثال در مطالعه Ebrahimiyan و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند طی دو سال تحت شرایط نرمال و تنش خشکی (تنش شدید و متوسط) میزان وراثت‌پذیری در سال اول با اعمال تنش شدید خشکی برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b و پرولین به ترتیب در شرایط عدم تنش خشکی ۰/۶۹، ۰/۷۶ و ۰/۵۱ درصد و در شرایط تنش خشکی شدید به ترتیب برای صفات ذکر شده ۰/۸۱، ۰/۵۱ و ۰/۸۳ درصد گزارش شد. همچنین عنوان کردند که با اعمال تنش ملایم خشکی در سال دوم وراثت‌پذیری در شرایط عدم تنش به ترتیب برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b و پرولین به ترتیب ۰/۵۹، ۰/۳۴، ۰/۵۷ درصد و در شرایط تنش خشکی ملایم به ترتیب برای صفات ذکر شده ۰/۵۷، ۰/۵۷ و ۰/۳۷ درصد بود. در مطالعه دیگری میزان وراثت‌پذیری عمومی همه صفات فیزیولوژیک بالاتر از ۷۵ درصد در شرایط عدم تنش گزارش شد بطوریکه برای کلروفیل a ۸۶ درصد، کلروفیل b ۸۵ درصد و پرولین ۸۵/۶۴ درصد بود و در شرایط تنش خشکی برای صفات مذکور به ترتیب ۸۶/۴۴، ۹۱/۹۵ و ۷۶/۸۸ درصد گزارش شد (نوروزی، ۱۳۹۱).

مطالعات در زمینه برآورد پارامترهای ژنتیکی و تنوع ژنتیکی خصوصیات فیزیولوژیک در گراس‌های علوفه‌ای و به‌ویژه علف باغ بسیار محدود است و تاکنون مطالعه‌ای از طریق ایجاد جوامع پلی‌کراس (فامیل‌های نیمه‌خواهری) انجام نشده است. از طرفی خشکسالی و کم‌آبی بزرگترین تنش محیطی

جدول ۱- مشخصات و منشأ ژنوتیپ‌های والدی علف باغ (*Dactylis glomerata*) مورد مطالعه

| ژنوتیپ | کد توده اولیه | محل جمع‌آوری و تهیه بذر توده |
|--------|---------------|---|
| ۱ | RCAT041111 | خارجی - مجارستان |
| ۲ | ۴۰۰۰/۴۴ | سمنان، شاهرود ایستگاه تولید بذر |
| ۳ | ۴۰۰۰/۳۱ | اصفهان، نجف‌آباد مزرعه لورک |
| ۴ | RCAT041050 | خارجی - مجارستان |
| ۵ | RCAT041051 | خارجی - مجارستان |
| ۶ | RCAT041050 | خارجی - مجارستان |
| ۷ | ۴۰۰۰/۲۵ | اصفهان بانک بذر پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور |
| ۸ | ۴۰۰۰/U-۲ | شهرکرد - کوهرنگ - جاده تونل دوم |
| ۹ | ۴۰۰۰/۲۵ | اصفهان بانک بذر پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور |
| ۱۰ | ۴۰۰۰/۲۹ | خارجی - هلند |
| ۱۱ | RCAT041052 | خارجی - مجارستان |
| ۱۲ | ۴۰۰۰/۲۶ | اصفهان بانک بذر پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور |
| ۱۳ | ۴۰۰۰/۳۱ | اصفهان، نجف‌آباد مزرعه لورک |
| ۱۴ | ۴۰۰۰/۲۴ | اصفهان بانک بذر پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور |
| ۱۵ | ۴۰۰۰/۴۴ | سمنان - شاهرود - ایستگاه تولید بذر |
| ۱۶ | ۴۰۰۰/۲۵ | اصفهان بانک بذر پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور |
| ۱۷ | ۴۰۰۰/۲۴ | اصفهان بانک بذر پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور |
| ۱۸ | RCAT041052 | خارجی - مجارستان |
| ۱۹ | ۴۰۰۰/۲ | اصفهان بانک بذر پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور |
| ۲۰ | ۴۰۰۰/۴۴ | سمنان - شاهرود - ایستگاه تولید بذر |
| ۲۱ | RCAT041122 | خارجی - مجارستان |
| ۲۲ | RCAT041111 | خارجی - مجارستان |
| ۲۳ | ۴۰۰۰/۲ | اصفهان بانک بذر پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور |
| ۲۴ | ۴۰۰۰/۳۱ | اصفهان، نجف‌آباد مزرعه لورک |
| ۲۵ | RCAT041111 | خارجی - مجارستان |

FC: رطوبت وزنی خاک در حد ظرفیت زراعی (درصد)
 PWP: رطوبت وزنی خاک در حد پژمردگی دائم (درصد)
 D: عمق فعال توسعه ریشه (میلی متر)
 B: چگالی ظاهری خاک در ناحیه توسعه ریشه (۱/۴ گرم بر سانتی متر مکعب)
 MAD: ضریب مدیریت مزرعه برای حالت بدون تنش برابر با ۵۰ درصد و محیط تنش برابر با ۹۰ درصد بود.
 به منظور اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک با اعمال تنش خشکی در اوایل شروع دوره رشد رویشی گیاه (اسفند ماه)، در زمان گرده‌افشانی گیاه با گرفتن نمونه برگ در آزمایشگاه

کل آب در دسترس که می‌تواند از عمق توسعه ریشه تخلیه شود بدون اینکه به گیاه تنشی وارد شود را نشان می‌دهد که بر اساس تجربیات قبلی بر بوی این گیاه تعیین شد. مقدار تخلیه رطوبت از خاک براساس مقدار تبخیر- تعرق چمن با استفاده از رابطه فائو-پنمن - مانتیث (FAO Penman Monteith equation) و ضریب گیاهی داکتیلیس طی دوره رشد محاسبه و زمان‌های آبیاری مشخص شد (Allen et al., 1998). عمق مجاز تخلیه رطوبت از عمق توسعه ریشه (I_d) از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$I_d = (FC - PWP) \times D \times B \times MAD$$

 I_d : عمق آب مجاز برای تخلیه در تیمار مورد نظر (میلی متر)

Sleper (۱۹۸۳) محاسبه گردیدند.

نتایج و بحث:

شاخص‌های تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری صفات فیزیولوژیک: نتایج میانگین، دامنه تغییرات و درصد کاهش برای صفات فیزیولوژیک بر روی ۲۵ فامیل علف باغ (جدول ۲) نشان داد که به جز میانگین صفات نسبت کلروفیل a/b و پرولین که در شرایط تنش خشکی بیشتر از عدم تنش بود برای سایر صفات این مقدار در شرایط عدم تنش بالاتر بود. میزان پرولین در حالت عدم تنش و تنش به ترتیب ۰/۳۹ و ۲/۰۵ میکرومول بر میلی‌گرم برگ بود که افزایش بیش از ۵ برابری را نشان می‌دهد که می‌توان از آن به عنوان فاکتور مناسب جهت تعیین شدت تنش استفاده کرد. دامنه تغییرات میزان پرولین در شرایط عدم تنش بین ۰/۳۴ تا ۰/۵۳ و در شرایط تنش خشکی بین ۱/۰۴ تا ۳/۵۴ میکرو مول بر میلی گرم برگ متغیر بود. محتوای آب نسبی برگ در شرایط عدم تنش ۷۹/۶۴ و در شرایط تنش ۴۶/۱۸ درصد بود.

تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل a به میزان ۳۱ درصد شد. محتوای کلروفیل a در شرایط عدم تنش خشکی دامنه‌ی بین ۰/۳۴ تا ۰/۸۵ و در شرایط تنش رطوبتی دامنه‌ی بین ۰/۱۵ تا ۰/۷۶ میلی‌گرم بر گرم داشت (جدول ۲). محتوای کلروفیل b در شرایط عدم تنش خشکی دامنه‌ی بین ۰/۴ تا ۰/۰۹ میلی‌گرم بر گرم و در شرایط تنش خشکی بین ۰/۲۵ تا ۰/۰۴ میلی‌گرم بر گرم داشت (جدول ۲). همچنین تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل b به میزان ۵۹ درصد شد. در مطالعه ارقام اسپرس کاهش محتوای آب نسبی برگ و افزایش پرولین تحت شرایط تنش خشکی گزارش شده است (ویسی پور و همکاران، ۱۳۹۲). در حالی‌که در گزارش نوروزی (۱۳۹۱) در بررسی ژنوتیپ‌های فسکیو بلند تحت تنش خشکی متوسط و در مطالعه Lonbani و Arzani (۲۰۱۱) میزان محتوای کلروفیل b تحت تنش خشکی افزایش یافته است. این تناقض ممکن است ناشی از تفاوت در زمان نمونه برداری بعد از اعمال تنش خشکی و شدت اعمال تنش خشکی

فیزیولوژی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام گردید. عملکرد علوفه به همراه صفات فیزیولوژیک طی چین اول مورد بررسی قرار گرفت. همچنین عملکرد علوفه در چین دوم و سوم نیز اندازه‌گیری گردید.

میزان آب نسبی برگ (RWC= Relative water content)، براساس فرمول زیر محاسبه گردید که در آن W_f وزن تر نمونه برگی W_d وزن خشک نمونه برگگی و W_t وزن تورژسانس نمونه برگگی می باشد:

$$RWC (\%) = [(W_f - W_d) / (W_t - W_d)] \times 100$$

برای استخراج اسید آمینه پرولین از بافت‌های برگ از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) با استفاده از معرف ناین هیدرین و برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler و Buschman (۲۰۰۱) استفاده شد.

تجزیه آماری به صورت تجزیه مرکب در قالب بلوک کامل تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام گرفت. به منظور گروه‌بندی فامیل‌های نیمه‌خواه‌ری از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (Ward) بر مبنای ماتریس فاصله اقلیدسی به عنوان معیار فاصله استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری به کمک نرم‌افزار SAS و SPSS و ترسیم جداول به کمک نرم‌افزار Excel انجام گرفت. برآورد واریانس محیطی و ژنتیکی براساس امید ریاضی میانگین مربعات برآورد شد. ضریب تنوع فنوتیپی، ضریب تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری خصوصی هر صفت از روابط زیر محاسبه شد (Nguyen and Sleper, 1983; Halluer et al., 2010).

$$PCV = \frac{\sqrt{VP}}{\bar{X}} \times 100$$

$$GCV = \frac{\sqrt{VG}}{\bar{X}} \times 100$$

$$h_n^2 = \frac{S_F^2}{S_F^2 + \frac{\sigma_e^2}{r}}$$

در روابط بالا Vg واریانس ژنتیکی، Vp واریانس فنوتیپی، PCV ضریب تغییرات فنوتیپی و GCV ضریب تغییرات ژنوتیپی می‌باشند. همچنین r تعداد بلوک و S_F^2 و σ_e^2 به ترتیب اجزاء واریانس بین فامیل‌ها (معادل جزء افزایشی واریانس ژنتیکی) و خطای آزمایشی می‌باشند که بر اساس Nguyen

جدول ۲- دامنه تغییرات و میانگین صفات فیزیولوژیک در شرایط عدم تنش و تنش خشکی در فامیل‌های نیمه خاوه‌ری علف باغ

| صفت | تنش | | عدم تنش | | میانگین | |
|-------------------------|---------|-----------|---------|--------|---------|--------|
| | عدم تنش | درصد کاهش | حداقل | حداکثر | حداقل | حداکثر |
| کلروفیل a (mg/g leaf) | ۰/۵۸ | ۳۱/۰۳*** | ۰/۱۵ | ۰/۷۶ | ۰/۳۴ | ۰/۴ |
| کلروفیل b (mg/g leaf) | ۰/۲۲ | ۵۹/۰۹** | ۰/۰۴ | ۰/۲۵ | ۰/۰۹ | ۰/۰۹ |
| کلروفیل کل (mg/g leaf) | ۰/۸ | ۳۷/۵** | ۰/۱۹ | ۰/۸۹ | ۰/۴۶ | ۰/۴۹ |
| کلروفیل a/b | ۲/۸۲ | -۷۰/۵۱*** | ۲/۰۷ | ۶/۷۶ | ۲/۱۳ | ۴/۷۸ |
| کارتونوئید (mg/g leaf) | ۰/۲۶ | ۳۰/۷۷* | ۰/۱۱ | ۰/۲۹ | ۰/۱۶ | ۰/۱۸ |
| کلروفیل کل/کارتونوئید | ۳/۰۷ | ۱۸/۹۲* | ۱/۲۶ | ۴/۳۵ | ۲/۵۷ | ۲/۴۹ |
| پرولین (μ mol/ mg leaf) | ۰/۳۹ | -۴۲۵/۶۴** | ۱/۰۴ | ۳/۵۴ | ۰/۳۴ | ۲/۰۵ |
| محتوای آب نسبی (%) | ۷۹/۶۴ | ۴۲/۰۱*** | ۸۵/۳۴ | ۵۷/۸ | ۷۱/۶۵ | ۴۶/۱۸ |

*** و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵، ۱ و ۰/۱ درصد می‌باشد

باشد (Lonbani and Arzani, 2011).

عوامل محدود کننده فتوسنتز در تنش خشکی در دو گروه عوامل محدود کننده روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای قرار می‌گیرند. از عوامل محدود کننده غیر روزنه‌ای می‌توان به کاهش و یا توقف سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل‌ها و کارتونوئیدها اشاره کرد (Oliviera-Neto et al., 2009). در آزمایشی که Jiang و Huang (۲۰۰۱) بر روی تورفوگراس انجام دادند تنش آبی در مراحل اولیه محتوای کلروفیل را افزایش داد ولی تنش‌های طولانی مدت باعث کاهش محتوای کلروفیل گردید. گیاه در مراحل ابتدایی تنش سعی در تکمیل چرخه حیاتی خود دارد، بدین ترتیب با افزایش مقدار کلروفیل سعی در تولید ماده فتوسنتزی بیشتر و تسریع در دوران پرشدن دانه دارد. افزایش محتوای کلروفیل در تنش خشکی ملایم می‌تواند نتیجه رشد آهسته سلول‌ها برای سنتز کلروفیل باشد (Wang and Huang, 2004). کاهش کلروفیل در اثر تداوم تنش خشکی احتمالاً بواسطه کاهش در پروتئین‌های غشاء تیلاکوئید، افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز و پراکسیداز و اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز کلروفیل در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌باشد (Silva et al., 2007).

در مطالعه Ashraf و همکاران (۲۰۰۷) تنش خشکی غلظت کلروفیل b را بیشتر از a کاهش داد که باعث افزایش نسبت کلروفیل a/b گردید. در آزمایش آنتولین و همکاران به نقل از صالحی و کوچکی (۱۳۸۲) نسبت کلروفیل a/b در اثر تنش

خشکی افزایش یافت که تیره شدن رنگ برگ‌ها را در پی داشت. در شرایط تنش خشکی شدید افزایش نسبت کلروفیل a/b را می‌توان به مقایسه کلروفیل a با کلروفیل b نسبت داد زیرا کلروفیل b فقط در سیستم رنگدانه آنتنا حضور دارد ولی کلروفیل a در مراکز واکنش فتوسیستم I و فتوسیستم II حضور دارد. بنابراین نسبت کلروفیل a/b شاخصی برای تجهیزات و سازوکار کاربرد رنگدانه‌ها و دستگاه فتوسنتزی است (Lichtenthaler and Buschmann, 2001). کاهش نسبت کلروفیل a/b در ژنوتیپ‌های حساس به خشکی نسبت به ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی سریع‌تر رخ می‌دهد (Lichtenthaler and Buschmann, 2001).

ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی و وراثت پذیری خصوصی:
نتایج ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی برای صفات فیزیولوژیک (جدول ۳) نشان داد که در بین صفات اندازه‌گیری شده، بیشترین ضریب تنوع فنوتیپی در هر دو شرایط عدم تنش و تنش خشکی مربوط به کلروفیل b بود و کمترین آن برای محتوای آب نسبی برگ دیده شد. کمترین ضریب تنوع ژنتیکی در حالت عدم تنش (۴/۵ درصد) و تنش خشکی (۵/۷ درصد) مربوط به محتوای آب نسبی برگ بود و بیشترین میزان آن در عدم تنش خشکی برای کلروفیل کل (۳۶ میلی‌گرم بر گرم برگ) و در شرایط تنش خشکی برای کلروفیل b (۶۶/۲۷ میلی‌گرم بر گرم برگ) برآورد گردید.

جدول ۳. ضریب تغییرات فنوتیپی، ژنتیکی و وراثت‌پذیری صفات فیزیولوژیک در شرایط عدم تنش و تنش خشکی در فامیل‌های نیمه خواهری علف باغ

| صفات | ضریب تنوع فنوتیپی (%) | | ضریب تنوع ژنتیکی (%) | | وراثت‌پذیری خصوصی | |
|--------------------------------------|-----------------------|---------|----------------------|---------|-------------------|---------|
| | تنش | عدم تنش | تنش | عدم تنش | تنش | عدم تنش |
| کلروفیل a (mg/g leaf) | ۲۳/۹۶ | ۳۳/۱ | ۱۶/۹ | ۳۱/۰۸ | ۳۸ | ۶۸ |
| کلروفیل b (mg/g leaf) | ۳۳/۸۸ | ۳۸/۲ | ۶۶/۲۷ | ۲۷/۴۵ | ۴۹ | ۳۶ |
| کلروفیل کل (mg/g leaf) | ۲۲/۷ | ۳۸ | ۱۶/۰۷ | ۳۶ | ۳۴ | ۷۸ |
| کلروفیل a/b | ۱۶/۹۲ | ۱۵/۹ | ۱۱/۴۹ | ۱۲/۹ | ۳۲ | ۴۹ |
| کارتنوئید (mg/g leaf) | ۲۴/۸ | ۲۴/۳ | ۱۷/۶ | ۱۷/۲ | ۳۸ | ۳۴ |
| کلروفیل کل/کارتنوئید | ۱۶/۴ | ۶/۵ | ۸/۸ | ۵/۹ | ۳۳ | ۴۳ |
| پرولین ($\mu\text{ mol/ mg leaf}$) | ۳۱/۴ | ۱۵/۸ | ۲۸/۶ | ۷/۰۷ | ۶۶ | ۵۹ |
| محتوای آب نسبی (%) | ۱۲/۳۲ | ۵/۲ | ۵/۷ | ۴/۵ | ۱۷ | ۲۹ |

را به ترتیب ۵۷، ۵۷ و ۳۷ درصد گزارش کردند. نوروزی (۱۳۹۱) در مطالعه ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند میزان وراثت-پذیری عمومی کلروفیل a را ۸۶ درصد، کلروفیل b ۸۵ درصد و پرولین ۷۶ درصد گزارش کرد. بر طبق نظر Rosielle و Hamblin (۱۹۸۱) اگر واریانس ژنتیکی در محیط دارای تنش بزرگتر از شرایط بدون تنش باشد انتخاب در محیط دارای تنش از بازدهی ژنتیکی بالاتری نسبت به انتخاب در شرایط بدون تنش و انتخاب در دو محیط برخوردار خواهد بود. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری برای صفات کلروفیل b و پرولین در شرایط تنش خشکی بیشتر است و احتمالاً گزینش برای بهبود تحمل به خشکی از طریق این صفات در شرایط تنش خشکی موفقیت بیشتری خواهد داشت.

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین: نتایج تجزیه واریانس عملکرد علوفه خشک و درصد ماده خشک بر اساس ۳ چین (جدول ۴) نشان داد که اثر محیط رطوبتی بر درصد ماده خشک و عملکرد علوفه خشک معنی‌دار بود. فاکتور چین در سطح احتمال ۰/۱ درصد برای صفت عملکرد علوفه خشک تاثیر معنی‌دار داشت. معنی‌دار شدن اثر فامیل نشان می‌دهد که بین ژنوتیپ‌ها تنوع قابل ملاحظه‌ای از نظر این دو صفت وجود دارد. اثرات متقابل فامیل \times محیط رطوبتی، محیط رطوبتی \times

نتایج وراثت‌پذیری خصوصی برای صفات فیزیولوژیک (جدول ۳) نشان داد بیشترین میزان وراثت‌پذیری خصوصی در عدم تنش مربوط به کلروفیل کل (۷۸ درصد) و کمترین آن مربوط به محتوای آب نسبی برگ (۲۹ درصد) بود. همچنین در شرایط تنش خشکی بیشترین و کمترین میزان وراثت‌پذیری خصوصی به ترتیب به پرولین (۶۶ درصد) و محتوای آب نسبی برگ (۱۷ درصد) اختصاص داشت. وراثت‌پذیری خصوصی به عنوان نسبتی از جزء وراثت‌پذیر واریانس ژنتیکی (واریانس افزایشی) به کل واریانس ژنتیکی مطرح است. در بین طرح‌های ژنتیکی روش تلاقی‌های نیمه خواهری (جوامع پلی‌کراس) از بهترین روش‌ها برای برآورد آن محسوب می‌گردد. پژوهش‌ها در این زمینه در گندمیان علوفه‌ای بسیار محدود بوده و مطالعات موجود به بررسی توارث‌پذیری عمومی صفات از طریق جوامع طبیعی پرداخته‌اند. در بررسی ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند طی دو سال تحت شرایط نرمال و تنش خشکی، Ebrahimiyan و همکاران (۲۰۱۳) عنوان کردند که صفات فیزیولوژیک مورد بررسی وراثت‌پذیری بالایی داشتند بطوریکه میزان وراثت‌پذیری عمومی را در شرایط اعمال تنش شدید خشکی برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b و پرولین به ترتیب ۶۹، ۷۶ و ۵۱ درصد گزارش کردند. آنها همچنین با اعمال تنش خشکی ملایم وراثت‌پذیری صفات فوق

جدول ۴- میانگین مربعات عملکرد علوفه در چین‌های مختلف در تجزیه مرکب دو محیط رطوبتی (عدم تنش و تنش خشکی) در قالب طرح کورت خرد شده برای فامیل‌های نیمه خواهری علف باغ

| میانگین مربعات | | درصد ماده خشک | درجه آزادی | منابع تغییرات |
|-----------------------|--------------------------|--------------------|------------|---------------------------|
| عملکرد علوفه خشک t/ha | عملکرد علوفه خشک g/plant | | | |
| ۵۶۶۹۹/۴۱*** | ۴۸۳/۶*** | ۱۵۱۹۱/۶۴* | ۱ | محیط رطوبتی |
| ۴۷۷/۳۵ | ۳/۹ | ۴۰۷/۴ | ۲ | اشتباه a |
| ۹۳۷/۴۳*** | ۷/۶*** | ۱۳۳/۹*** | ۲۴ | فامیل |
| ۷۷۱/۳۴*** | ۶/۲۵*** | ۱۳۵/۴۵*** | ۲۴ | فامیل × محیط رطوبتی |
| ۳۰۱/۹ | ۲/۴ | ۴۵/۳ | ۴۸ | اشتباه b |
| ۵۲۹۷۷/۵*** | ۴۲۹/۱۲*** | ۷۵/۵ ^{ns} | ۲ | چین |
| ۲۱۲۷۳/۸*** | ۱۷۲/۳۲*** | ۶۱۹/۸*** | ۲ | محیط رطوبتی × چین |
| ۷۶۸/۵۵*** | ۶/۲۲*** | ۱۰۵/۸*** | ۴۸ | فامیل × چین |
| ۶۱۸/۲۵*** | ۵/۰۰۷*** | ۶۳/۰۶* | ۴۸ | محیط رطوبتی × فامیل × چین |
| ۲۵۰/۳ | ۲/۰۳ | ۴۲/۲۶ | ۱۰۰ | اشتباه c |

ns، *، ** و ***: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵، ۱ و ۱ درصد می‌باشد.

ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند گزارش شد که تنش خشکی بر روی صفات فیزیولوژیک مورد بررسی به غیر از محتوای آب نسبی برگ چین دوم تاثیر معنی‌دار داشت و ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات فیزیولوژیک مورد بررسی تفاوت معنی‌داری نشان دادند. در مطالعه دیگری در بررسی ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند طی دو سال تنوع ژنتیکی بالایی بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات فیزیولوژیک گزارش گردید (Ebrahimiyan et al., 2013).

نتایج مقایسه میانگین عملکرد علوفه در سه چین نشان داد در شرایط تنش خشکی عملکرد علوفه خشک کاهش یافت بطوری که میانگین عملکرد در گذر از شرایط عدم تنش به شرایط تنش خشکی در چین اول از ۱۰۷۱ گرم در بوته به ۴۹۸ گرم در بوته، در چین دوم از ۳۲۵ گرم در بوته به ۱۵۲ گرم در بوته و در چین سوم از ۲۱۰ گرم در بوته به ۸۵/۴ گرم در بوته کاهش یافت (نتایج نشان داده نشده). مقایسه میانگین فامیل‌های علف باغ برای صفات فیزیولوژیک (جدول ۶) نشان داد که میزان پرولین و نسبت کلروفیل a/b در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط عدم تنش افزایش یافت ولی سایر صفات کاهش یافتند. از نظر میزان کلروفیل a در شرایط عدم تنش فامیل ۵ (۰/۸۵ میلی‌گرم بر گرم برگ) بیشترین و فامیل ۲

چین، فامیل × چین در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار بود که نشان می‌دهد نحوه واکنش فامیل‌ها در بروز اینگونه صفات در محیط‌های مختلف و چین‌های متفاوت یکسان نمی‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک بر روی ۲۵ فامیل نیمه خواهری علف باغ (جدول ۵) نشان داد، تنش خشکی بر روی تمام صفات مورد بررسی تاثیر معنی‌دار داشت. اثر فامیل در سطح احتمال ۰/۱ درصد برای همه صفات به جز نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید و محتوای آب نسبی برگ تاثیر معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل محیط رطوبتی × ژنوتیپ برای صفات کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، نسبت کلروفیل a/b و پرولین معنی‌دار بود.

عملکرد به عنوان پیچیده ترین خصوصیت گیاه تحت تاثیر تعداد زیادی از فرآیندهای فیزیولوژیکی است و نمود قابل اندازه گیری این فرآیندها در صفات نموی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی تجلی می‌یابد (Bhatt and Srinivasa-Rao, 2005). در مطالعه بر روی ارقام اسپرس گزارش شد که بین ارقام برای تمام صفات به غیر از نسبت کلروفیل a/b و کارتنوئید اختلاف معنی‌داری وجود داشت (ویسی پور و همکاران، ۱۳۹۲). در مطالعه نوری (۱۳۹۱) بر روی

جدول ۵- میانگین مربعات صفات فیزیولوژیک در تجزیه مرکب دو محیط رطوبتی (تنش و عدم تنش) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی برای فامیل‌های نیمه خواهری علف باغ

| درجه آزادی | عملکرد علوفه خشک | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل (a+b) | کارتونوئید CAR | نسبت | | محتوای آب نسبی برگ | میانگین مربعات |
|-----------------|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| | | | | | | نسبت کلروفیل (a+b)/CAR | نسبت کلروفیل a/b | | |
| ۱ | ۲۴۳۰۹۷۳۵/۸* | ۰/۸۶*** | ۰/۴** | ۲/۴۳** | ۰/۱۴* | ۹۶/۶۹*** | ۸/۵* | ۶۸/۶۴** | ۲۷۹۸۱/۶*** |
| ۲ | ۴۰۹۵۵۴/۲۵ | ۰/۰۰۶ ^{ns} | ۰/۰۰۷ ^{ns} | ۰/۰۲۵ ^{ns} | ۰/۰۰۲ ^{ns} | ۰/۹۶ ^{ns} | ۰/۱۹ ^{ns} | ۰/۸۱*** | ۳۰/۱۲ ^{ns} |
| ۲۴ | ۷۱۶۴۹۲/۴*** | ۰/۰۷۶*** | ۰/۰۲*** | ۰/۱۳*** | ۰/۰۰۸*** | ۲/۲۷*** | ۰/۸۹ ^{ns} | ۰/۴۳*** | ۵۸/۶۲ ^{ns} |
| ۲۴ | ۴۹۹۱۳۵/۸*** | ۰/۰۴۳ ^{ns} | ۰/۰۰۷*** | ۰/۰۷۴* | ۰/۰۰۴* | ۱/۸۷* | ۰/۵۵ ^{ns} | ۰/۲*** | ۴۷/۷ ^{ns} |
| ۴۸ | ۱۹۳۰۴۲/۲۳ | ۰/۰۳ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۴ | ۰/۰۰۲ | ۱/۰۰۲ | ۰/۴ | ۰/۰۷ | ۴۱/۱ |
| ضرب تغییرات (%) | ۲۳/۰۲ | ۲۴/۸ | ۲۱/۳۳ | ۲۱/۶۵ | ۱۶/۵۴ | ۲۶/۳۶ | ۲۳/۷ | ۲۱/۷۱ | ۱۱/۲۵ |

ns، *، ** و ***: به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵، ۱ و ۱ درصد می‌باشد

افزایش داده و در نهایت منجر به کاهش سطح برگ می‌شود. کاهش سطح برگ به واسطه تنش به این معنی است که فتوسنتز گیاه کاهش می‌یابد (Croser et al., 2001). کاهش در محتوای آب نسبی برگ، میزان کلروفیل و اجزای آن در فسکیوی بلند نیز گزارش شده است (Ebrahimiyan et al., 2013).

تنش خشکی باعث افزایش قابل توجه میزان پرولین برگ در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط عدم تنش شد. بطوری که در شرایط تنش خشکی میزان آن برابر با ۲/۰۵ میکرومول بر میلی‌گرم برگ و در شرایط عدم تنش برابر با ۰/۳۹ میکرومول بر میلی‌گرم برگ می‌باشد. در شرایط عدم تنش فامیل ۱۵ (۰/۵۳ میکرومول بر میلی‌گرم برگ) و فامیل‌های ۱، ۲، ۷ و ۸ با مقدار (۰/۴۳ میکرومول بر میلی‌گرم برگ) به ترتیب بیشترین و کمترین پرولین را نشان دادند. در شرایط تنش خشکی فامیل‌های ۹ و ۱۰ به ترتیب با مقدار ۳/۵۴ و ۳/۴۸ میکرومول بر میلی‌گرم برگ بیشترین و فامیل‌های ۲۰ و ۲۳ با مقدار ۱/۰۴ میکرومول بر میلی‌گرم برگ کمترین پرولین را به خود اختصاص دادند. افزایش پرولین در اثر تنش خشکی در گراس‌ها در بررسی Ebrahimiyan و همکاران (۲۰۱۳) و آروئی و همکاران (۱۳۷۹) نیز مشاهده گردید. در شرایط تنش کمبود آب گیاه به منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله پرولین و کربوهیدرات‌های محلول برگ،

(۰/۳۴ میلی‌گرم بر گرم برگ) کمترین مقدار را دارا بودند و در شرایط تنش خشکی فامیل ۲۴ بیشترین و فامیل‌های ۱۰ و ۲۵ هر دو با میزان ۰/۱۵ میلی‌گرم بر گرم برگ کمترین میزان را به خود اختصاص دادند. تنش خشکی باعث کاهش محتوای آب نسبی گیاه شد (جدول ۶) بطوری که میزان آن در شرایط عدم تنش برابر ۷۹/۶۴ درصد و در شرایط تنش خشکی برابر ۴۶/۱۸ درصد بود. فامیل‌های ۱۵ (۸۶/۱۳ درصد) و ۱۹ (۸۵/۸۴ درصد) به ترتیب دارای بیشترین درصد میزان محتوای آب نسبی برگ و فامیل‌های ۲۳ (۷۱/۶۵ درصد) و ۱۲ (۷۲/۶۴ درصد) کمترین میزان درصد میزان محتوای آب نسبی برگ را در شرایط عدم تنش داشتند. در شرایط تنش خشکی فامیل ۲۳ (۵۷/۸۰ درصد) بیشترین و فامیل ۷ (۳۷/۸۸ درصد) کمترین درصد محتوای آب نسبی برگ را نشان دادند. کاهش فشار تورژسانس می‌تواند اولین اثر ناشی از تنش خشکی باشد که سرعت رشد سلول و اندازه نهایی آن را متاثر ساخته و احتمالاً حساس‌ترین فرآیند سلولی به تنش است (Bhatt and Srinivasa-Rao, 2005). انعطاف‌پذیری سطح برگ معیار مهمی است که گیاه تنش دیده از طریق آن کنترل خود را بر مصرف آب حفظ می‌کند (Blum, 2011). گسترش اندازه سلول‌ها به طور کلی رابطه نزدیکی با فشار تورژسانس دارد. تنش اسمزی آستانه فشار تورژسانس لازم برای رشد سلول‌های برگ را

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک در شرایط عدم تنش و تنش خشکی در فامیل‌های نیمه خوهری علف باغ

| ژنوتیپ | تنش عدم تنش | | تنش عدم تنش | | تنش عدم تنش | | تنش عدم تنش | | تنش عدم تنش | | تنش عدم تنش | | LSD(5%) |
|---------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------|
| | کل کلروفیل a | کل کلروفیل b | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل a | کلروفیل b | |
| ۱ | ۰/۴۶ | ۰/۹۹ | ۰/۰۸ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۰۴۰ |
| ۲ | ۰/۳۹ | ۰/۴۶ | ۰/۰۶ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۰۳۰ |
| ۳ | ۰/۸۱ | ۰/۵۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۰۵۰ |
| ۴ | ۰/۵۹ | ۰/۲۲ | ۰/۰۱ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۰۳۰ |
| ۵ | ۰/۶۶ | ۱/۲۵ | ۰/۱۲ | ۰/۲۳ | ۰/۲۳ | ۰/۲۳ | ۰/۲۳ | ۰/۲۳ | ۰/۲۳ | ۰/۲۳ | ۰/۲۳ | ۰/۲۳ | ۰/۰۴۰ |
| ۶ | ۰/۵۰ | ۱/۱۹ | ۰/۱۱ | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۰۳۰ |
| ۷ | ۰/۳۶ | ۰/۸۱ | ۰/۰۷ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۰۳۰ |
| ۸ | ۰/۵۷ | ۰/۹۰ | ۰/۱۲ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۰۴۰ |
| ۹ | ۰/۵۳ | ۰/۴۸ | ۰/۰۷ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۸ | ۰/۰۳۰ |
| ۱۰ | ۰/۱۹ | ۰/۶۱ | ۰/۰۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۰۲۰ |
| ۱۱ | ۰/۶۴ | ۰/۸۲ | ۰/۰۹ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۰۴۰ |
| ۱۲ | ۰/۵۹ | ۰/۸۹ | ۰/۱۵ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۰۴۰ |
| ۱۳ | ۰/۳۶ | ۱/۱۰ | ۰/۱۰ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۰۳۰ |
| ۱۴ | ۰/۴۵ | ۰/۹۱ | ۰/۱۲ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۰۴۰ |
| ۱۵ | ۰/۳۶ | ۰/۶۴ | ۰/۰۵ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۰۳۰ |
| ۱۶ | ۰/۵۹ | ۱/۰۳ | ۰/۱۱ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۰۴۰ |
| ۱۷ | ۰/۵۰ | ۰/۶۱ | ۰/۰۶ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۰۳۰ |
| ۱۸ | ۰/۶۴ | ۰/۸۱ | ۰/۰۶ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | ۰/۰۳۰ |
| ۱۹ | ۰/۳۲ | ۰/۸۹ | ۰/۰۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۰۳۰ |
| ۲۰ | ۰/۵۰ | ۱/۱۵ | ۰/۰۴ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۰۳۰ |
| ۲۱ | ۰/۵۷ | ۰/۵۵ | ۰/۱۱ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ | ۰/۰۳۰ |
| ۲۲ | ۰/۶۲ | ۰/۸۱ | ۰/۰۹ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱ | ۰/۰۴۰ |
| ۲۳ | ۰/۶۶ | ۰/۸۶ | ۰/۰۵ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۰۳۰ |
| ۲۴ | ۰/۸۷ | ۰/۸۳ | ۰/۱۱ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ | ۰/۰۴۰ |
| ۲۵ | ۰/۱۹ | ۰/۴۸ | ۰/۰۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۰۲۰ |
| میانگین | ۰/۴۹ ^b | ۰/۸۰ ^b | ۰/۰۹ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۱۸ ^b | ۰/۰۳۰ |
| LSD(5%) | ۰/۰۶ | ۰/۰۴۵ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۱ | ۰/۰۳۰ |

a, b نشان دهنده تفاوت معنی دار بین میانگین صفات در دو شرایط محیطی نسبت به همدیگر می‌باشد.

کلروفیل b قرار داشتند (جدول ۶). در گروه سوم فامیل‌هایی جای گرفتند که دارای کمترین مقدار برای کلروفیل b و نسبت کلروفیل a/b بودند. فامیل‌هایی که در گروه چهارم قرار گرفتند بیشترین مقدار رطوبت نسبی برگ، پرولین و نسبت کلروفیل a/b را نشان دادند. در گروه پنجم فامیل‌های دارای کمترین میزان کلروفیل a قرار گرفتند و پرولین بالایی را نشان دادند.

در شرایط تنش خشکی فامیل‌های نیمه خواهری علف باغ به سه گروه جداگانه تقسیم شدند (شکل ۲). گروه اول ۹ فامیل قرار گرفت که با مشاهده ویژگی‌های این گروه حاکی از آن است که ارقام این گروه از درصد رطوبت نسبی و پرولین متوسط، بالاترین میزان کلروفیل a و نسبت کلروفیل a/b برخوردار بودند (جدول ۶). گروه دوم از لحاظ محتوای پرولین از بالاترین مقدار و کمترین درصد رطوبت نسبی برگ برخوردار بودند این گروه مقاوم نامیده شد (جدول ۶). گروه سوم شامل فامیل‌های ۱۸ تا ۲۵ بود که از لحاظ درصد رطوبت نسبی برگ، و نسبت کلروفیل a/b بالاترین مقدار و از نظر صفات کلروفیل a، کلروفیل b و محتوای پرولین دارای کمترین مقدار بودند.

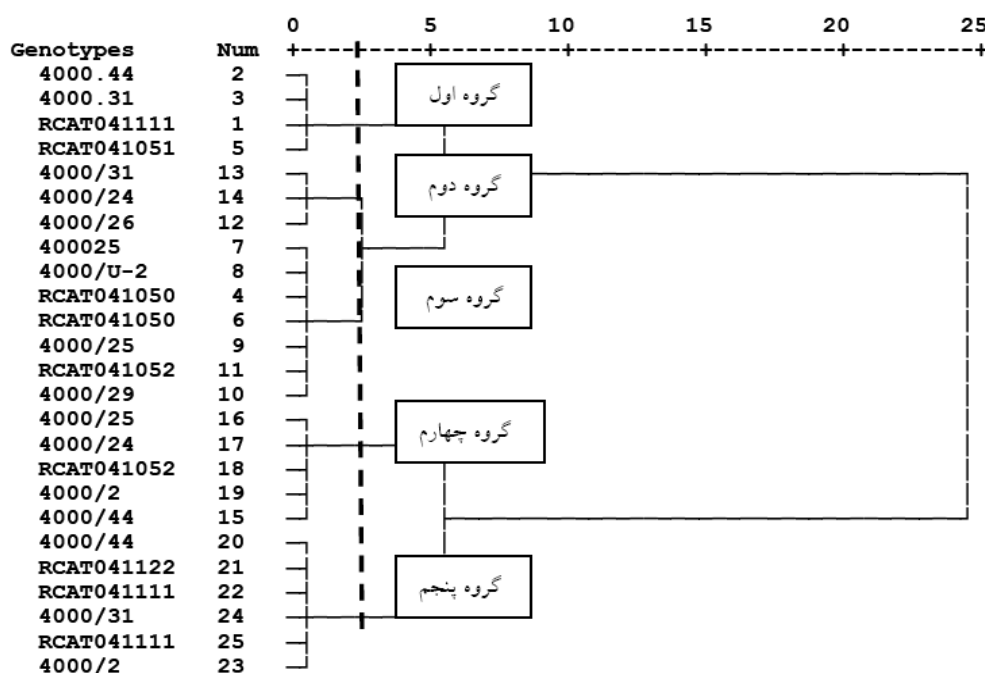
تجزیه خوشه‌ای روش مناسبی برای اندازه‌گیری و تعیین فواصل ژنتیکی، دوری یا نزدیکی خویشاوندی بین ژنوتیپ‌ها و ارقام می‌باشد بنابراین تجزیه خوشه‌ای روش برآورد شباهت بین افراد در یک جمعیت است (Johnson and Wichern, 2007). هدف یک متخصص اصلاح‌نباتات از دسته‌بندی ارقام و وارته‌های مختلف، پی بردن به فاصله ژنتیکی بین آنها و استفاده از تنوع ژنتیکی موجود در آنها در برنامه‌های اصلاحی می‌باشد (Anderberg, 1973). در این پژوهش از این روش برای گروه‌بندی ارقام در شرایط عادی و تنش خشکی استفاده گردید. نتایج حاکی از آن بود که فامیل‌ها براساس همه صفات اندازه‌گیری شده در گروه‌های متفاوتی قرار گرفتند که هر گروه از نظر یک یا دو خصوصیت فیزیولوژیک برتری داشت. ارقام گروه‌ها متفاوت دارای بیشترین فاصله ژنتیکی نسبت به یکدیگر می‌باشند و می‌توانند برای انتخاب والدین تلاقی و نیز توسعه ارقام ساختگی مورد استفاده قرار گیرند. از این روش در اسپرس برای جداسازی ارقام مقاوم و حساس به خشکی

پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهد (Farooq et al., 2009). به طور کلی تجمع پرولین تحت شرایط تنش توانایی گیاه را برای رشد و بقا فراهم می‌کند و کاهش در فعالیت پرولین اکسیداز با افزایش فعالیت گاما گلوتامیل کیناز ممکن است دلیل تجمع بیشتر پرولین تحت شرایط تنش باشد (Beemarao et al., 2007).

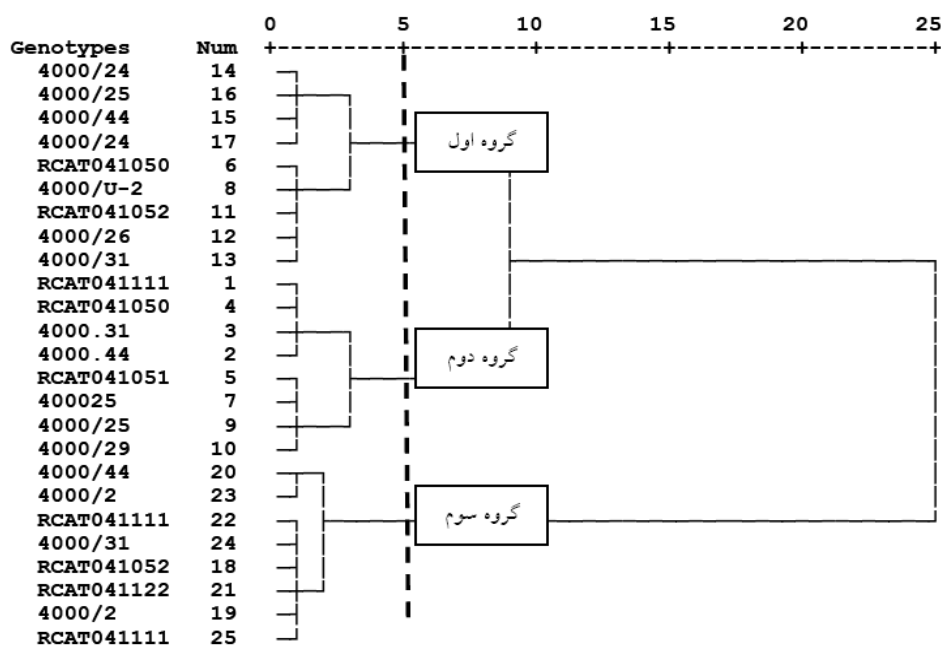
گزارش‌ها در مورد اثر تنش خشکی بر روی تجمع پرولین و ارتباط آن با مقاومت به خشکی متفاوت است. با وجود اینکه همبستگی بالایی بین تنش شدید و تجمع پرولین در گیاه وجود دارد لیکن ارتباط بین تجمع پرولین و مقاومت ژنتیکی به خشکی ممکن است عمومی نباشد (Seraj and Sinclair, 2002; Ashraf and Foolad, 2007). بعضی از گزارش‌ها بیان کرده‌اند که تجمع پرولین در گیاه در واکنش به تنش است و به مقاومت گیاه مربوط نیست (De-Lacerda et al., 2003). مثلاً گزارش شده است که با وجود افزایش پرولین در برخی گراس‌ها، نمی‌توان این تجمع را شاخصی از مقاومت به خشکی به حساب آورد، بلکه این افزایش شاخص خوبی از قدرت تنش خشکی است که بر گیاه اعمال شده است (Bokhari and Trent, 1985). در مطالعه ویسی پور و همکاران (۱۳۹۲) روی ارقام اسپرس گزارش شد که ارقامی که در اثر تنش خشکی که تجمع پرولین بیشتری داشتند الزاماً از عملکرد بالایی در شرایط تنش برخوردار نبودند. لیکن محتوای نسبی آب برگ شاخص بهتری برای شناسایی ژنوتیپ‌های دارای کاهش کمتر عملکرد در شرایط تنش بود.

گروه‌بندی ارقام براساس صفات فیزیولوژیک: تجزیه

خوشه‌ای نشان داد که در شرایط نرمال رطوبتی (شکل ۱) ۲ فامیل‌های نیمه‌خواهری به پنج گروه تفکیک شدند. در گروه اول فامیل‌های ۱، ۲، ۳ و ۵ قرار گرفتند بطوری که این گروه برای صفات درصد رطوبت نسبی برگ، کلروفیل a و کلروفیل b دارای مقدار متوسطی بودند و پرولین کمتری را نسبت به سایر گروه‌ها نشان دادند (جدول ۶). گروه دوم شامل فامیل‌های ۱۲، ۱۳ و ۱۴ از اصفهان بودند که این گروه دارای کمترین درصد رطوبت نسبی برگ و بالاترین کلروفیل a و



شکل ۱- نتایج گروه بندی نتاج پلی کراس علف باغ مورد بررسی بر اساس صفات فیزیولوژیک در شرایط عدم تنش خشکی



شکل ۲- نتایج گروه بندی نتاج پلی کراس علف باغ مورد بررسی بر اساس صفات فیزیولوژیک در شرایط تنش خشکی

نتیجه گیری:

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که بین فامیل های علف باغ مورد مطالعه از نظر صفات فیزیولوژیک در شرایط عادی و تنش خشکی تنوع بالایی وجود داشت. تنوع بالا نوید بخش کارایی روش های انتخاب به منظور اصلاح و ایجاد ارقام

استفاده شده است (Delgado *et al.*, 2008). بررسی سایر مکانسیم های درگیر در تحمل به خشکی در علف باغ و شناسایی ارقام برتر از نظر صفات فیزیولوژیک متفاوت می تواند زمینه را برای اصلاح و توسعه ارقام مقاوم به خشکی در این گونه مفید علوفه ای در کشور هموار سازد.

اهمیت ویژه ای برخوردار است. نتایج نشان داد با توجه به بالا بودن وراثت‌پذیری خصوصی صفات پرولین و کلروفیل b گزینش از طریق این صفات سریعتر بتواند منجر به توسعه ارقام متحمل به خشکی گردد.

بر عملکرد و اجزای عملکرد برخی ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند. پایانامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان. ایران.
ویسی پور، ا.، مجیدی، م. م. و میرلوحی، ا. (۱۳۹۲). بررسی خصوصیات فیزیولوژیک در پاسخ به تنش خشکی در چند رقم اسپرس زراعی (*onabrychis viciifolia*). دوفصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱: ۸۷-۱۰۲.

Allen, E. J., Morgan, D. G. and Ridgman, W. T. (1971) A Physiological of the growth of oilseed rape. *Journal of Agriculture Science* 77: 339-410.
Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D. and Smith, M. (1998). Crop evapotranspiration-guidelines for computing crop water requirements. *Irrigation and Drainage*.
Anderberg, M. R. (1973) Cluster Analysis for Applications. Academic Press, New York .
Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59:206-216
Bayat, F., Mirlohi, A., Khodambashi, M. (2009) Effects of endophytic fungi on some drought tolerance mechanisms of tall fescue in a hydroponics culture. *Russian Journal of Plant Physiology* 56: 510-516.
Beemaroo, S., Cheruth, A., Paramasivam, J. M., Ashok, K., Ramamurthy, S. and Rajaram, P. (2007) Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. *Acta Botanica* 66: 43-56
Bhatt, R. M. and Srinivasa-Rao, N. K. (2005) Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian Journal Plant Physiology* 10: 54-59
Blum, A. (2011) *Plant Breeding For Water-Limited Environments*. Springer, New York.
Bokhari, U. G. and Trent, J. D. (1985) Proline concentrations in water stressed grasses. *Journal of Rangeland Management* 38: 37-38.
Bretagnolle, F. and Thompson, J. D. (2001) Phenotypic plasticity in sympatric diploid and autotetraploid (*Dactylis glomerata*). *International Journal of Plant Science* 162: 309-316.

متحمل به خشکی می‌باشد. در علف باغ بدلیل ماهیت دگرگشن بودن این گیاه روش اصلاحی ایجاد واریته ترکیبی مرسوم است. در این راستا شناسایی اجزای واریته ترکیبی که دارای عملکرد مناسب بوده و از طرفی بین آنها از نظر مکانیسم‌های فیزیولوژیک تنوع کافی وجود داشته باشد از

منابع:

احمدی، ع. و سی و سه مرده، ع. (۱۳۸۳) اثر تنش خشکی بر کربوهیدرات‌های محلول، کلروفیل و پرولین در چهار رقم گندم سازگار با شرایط متفاوت اقلیمی ایران. *مجله علوم کشاورزی ایران*، ۳۵: ۷۵۳-۷۶۳.
آروئی، ح.، کاشی، ع. و امید بیگی، ر. (۱۳۷۹) اثر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد روغن کدوی بذر برهنه، نهال و بذر، ۱۶: ۳۵۹-۳۷۳
بابایی، ک.، امینی، م.، مدرس، ع. و جباری، ر. (۱۳۸۹) اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، تحقیقات گیاهان داروئی و معطر ایران، ۲۹: ۲۳۹-۲۵۱.
حیدری شریف آباد، ح. (۱۳۷۹) گیاه، خشکی و خشکسالی. چاپ اول، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
شهبازیان، ن. و ایران‌نژاد، ح. (۱۳۸۴) مقاومت گیاهان زراعی به تنش‌های محیطی. نشر کارنو. ایران.
صالحی، م. و کوچکی، ع. (۱۳۸۲) میزان نیتروژن و کلروفیل برگ به عنوان شاخصی از تنش خشکی در گندم، پژوهش‌های زراعی ایران، ۱: ۱۹۹-۲۰۳.
محمدی، ر.، خیام نکوئی، م.، مجیدی، م. و میرلوحی، ا. (۱۳۸۹) بررسی ظرفیت تولید و تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های گونه علوفه ای علف باغ (*Dactylis glomerata*). *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۳: ۱۳۹-۱۵۸.
مقدم، م. ر. (۱۳۷۷) مرتع و مرتعداری. انتشارات دانشگاه تهران. تهران.
نوروزی، ع. (۱۳۹۱) بررسی تنوع ژنتیکی و تاثیر تنش خشکی

- drought-stress tolerance in triticale and wheat. *Agronomy Research* 9: 315–329.
- Mationn, M. A., Brown, J. H. and Ferguson, H. (1989) Leaf water potential, relative water content and diffusive resistance as screening techniques for drought resistance in barley. *Agronomy Journal* 81: 100-105.
- Nguyen, H. T. and Sleper, D. A. (1983) Theory and application of half-sib matings in forage grass breeding. *Theoretical Application of Genetic* 64: 187-196.
- Oliviera-Neto, C. F., Silva-Lobato, A. K., Goncalves-Vidigal, M. C., Costa, R. C. L., Santos-Filho, B. G., Alves, G. A. R., Silva-Maia, W. J. M., Cruz F, J. R., Neres, H. K. B. and Santos Lopes, M. J. (2009) Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Science and Technology* 7: 588-593.
- Radin, J. W. and Hendrix, D. L. (1988) The apoplastic pool of abscisic acid in cotton leaves in relation to stomatal. *Planta* 174: 180-186.
- Rajinder, S. D. (1987) Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent dehydration in *Torula rulis*. *Plant Physiology*, 83: 816-819.
- Rosielle, A. A. and Hamblin, J. (1981) Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. *Crop Science* 21: 943-946.
- Santen, E. V. and Sleper, D. A. (1996) Orchardgrass. In: *Cool-season forage grasses*. (eds Moser, L.E. et al). Pp. 503-534, Ame Society Agronomy Crop Science USA, Madison.
- Seraj, R., Sinclair, T. R. (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environment* 25:333–341.
- Silva M. A., Jifon, J. L., Silva J. A. G. and Sharma, V (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19: 193-201.
- Staden, J., Hare, P. D. and Cress, W. A. (1999) Proline synthesis and degradation a model system for elucidating stress-related signal transduction. *Journal of Experimental Botany* 50: 413-434.
- Tas, S. and Tas, B. (2007) Some physiological responses of drought stress in wheat genotypes with different ploidity in Turkiye. *World Journal of Agriculture and Science* 3:178-183.
- Trollh, J. (1930) The importance of Bluh and *Befruchtung verhslnisse* on grass for their breeding salt-tolerant. *Breeder*, 2: 330-336.
- Wang, Z. and Huang, B. (2004) Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. *Crop Science* 44:1729–1736.
- Croser, C., Renault, S., Franklin, J. and Zwiazek, J. (2001) The effect of salinity on the emergence and seedling growth of *Picea morian*, *Picea glausa* and *Pinus banksiana*. *Environmental Pollution* 115: 6-16.
- De-Lacerda, C. F., Cambraia, J., Oliva, M. A., Ruiz, H. A. and Prisco, J. T. (2003) Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 49:107–120.
- Delgado, I., Salvia, J., Buil, I. and Andres, C. (2008) The agronomic variability of a collection of sainfoin accessions. *Spanish Journal of Agriulture Research*, 6: 401-407.
- Ebrahimiyan, M., Majidi, M. M., Mirlohi, A. and Noroozi, A. (2013) Physiological traits related to drought tolerance in tall fescue. *Euphytica* 190: 401- 414.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N. D., Fujita and, M. and Basra, A. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable Development* 29: 185-212.
- Frandsen, H. N. (1917) The *Befruchtung verhslnisse* with grass and clover in their relation to breeding salt-tolerant. *Ibid* 5: 1-30
- Fu, J. and 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.
- Halluer, A. R., Marcelo, J. C. and Miranda, J. B. (2010) *Quantitative genetic in maize breeding*. Iowa State Univ, Press, Ames Iowa.
- Jiang, Y. and Huang, B. (2001) Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrass in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science* 41:436–442
- Johnson, R. A. and Wichern, D. W. (2007) *Applied Multivariate Statistical Analysis*. 4th ed., Prentice Hall International, INC, New Jersey.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *John Wiley and Sons, Inc.*, Pp 522.
- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., Yang, R. (2011) Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in sixwoody plant species in karst habitats of southwestern China. *Environmental and Experimental Botany* 71:174–183.
- Lonbani, M. and Arzani, A. (2011) Morpho-physiological traits associated with terminal