

تغییرات فیزیولوژیک ناشی از تنش خشکی در مرحله گلدهی در لاین‌های حاصل از نسل چهارم تلاقی بین‌گونه‌ای گلرنگ

سهیلا اسپنانی، محمد مهدی مجیدی*، حسین علایی، قدرت‌اله سعیدی و فضا فرهادی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۵/۱۵)

چکیده

خویشاوندان وحشی گلرنگ تلاقی‌پذیری بالایی با گلرنگ زراعی داشته و از تحمل بالایی نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی به‌ویژه خشکی برخوردارند. این مطالعه به منظور بررسی تغییرات صفات فیزیولوژیک و ارتباط آن با عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی در لاین‌های نسل F4 حاصل از سه تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ انجام شد. بدین منظور تعداد ۱۳، ۱۴ و ۱۵ لاین حاصل از سه تلاقی *Carthamus tinctorius* × *Carthamus oxyacanthus* (TO) *tinctorius* × *Carthamus palaestinus* (TP) و *Carthamus palaestinus* × *Carthamus oxyacanthus* (PO) به همراه ۳ والد (در مجموع ۴۵ لاین) در دو محیط رطوبتی (نرمال و تنش خشکی) در قالب دو مطالعه ارزیابی شدند. در مطالعه اول لاین‌های حاصل از سه تلاقی برای درک مکانیسم‌های فیزیولوژیک تحمل به خشکی ارزیابی شدند و در مطالعه دوم تأثیر انتخاب برای عملکرد دانه در نسل F3 بر روی این صفات در نسل F4 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه اول نشان داد که تلاقی TP عملکرد دانه بیشتری نسبت به دو تلاقی دیگر در شرایط نرمال رطوبتی داشت، ولی در شرایط تنش خشکی بین جوامع حاصل از تلاقی‌ها تفاوت معنی‌داری از لحاظ این صفت مشاهده نشد. گونه‌های والدی مورد بررسی برای صفات محتوای نسبی آب برگ، محتوای پروتئین، مالون دی‌آلدئید، کلروفیل a و فلورسانس کلروفیل تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند، درحالی‌که جمعیت‌های بین‌گونه‌ای در اکثر صفات تفاوت معنی‌داری در شرایط تنش خشکی نشان ندادند که نشان‌دهنده انتقال ژن‌های مرتبط با تحمل از والدین وحشی به اهلی است. نتایج حاصل از مطالعه دوم نشان داد که جمعیت‌های TP، PO و TO واکنش متفاوتی از لحاظ صفات فیزیولوژیک نشان دادند که بیانگر وابسته‌بودن کارایی انتخاب به نوع جمعیت مورد مطالعه است. انتخاب در جمعیت TP که جمعیتی حاصل از تلاقی والد زراعی با والد وحشی *C. palaestinus* بود واکنش بهتری نسبت به دو جمعیت TO و PO که در آن‌ها والد *C. oxyacanthus* حضور داشت نشان داد. لذا جمعیت TP با توجه به ارزیابی فیزیولوژیک و عملکرد دانه، بهترین جمعیت برای ادامه برنامه‌های اصلاحی معرفی می‌شود.

کلمات کلیدی: انتخاب، اجداد وحشی، شاخص فیزیولوژیک، کم آبی، گلرنگ

مقدمه

Ekin,) گونه‌های خانواده کمپوزیته است (

گلرنگ زراعی (Safflower) با نام علمی *Carthamus* (2005; Chapman and Burke, 2007)، که از لحاظ زراعی

سلول‌های گیاه را کاهش دهد. تجمع پرولین در گیاه تحت تنش خشکی گاهی با تحمل گیاه به تنش همبستگی دارد (Anjum *et al.*, 2011; Ozturk and Demir, 2002). در طی تنش خشکی افزایش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در بسیاری از گیاهان گزارش شده است که می‌تواند آثار مخرب ناشی از تنش خشکی را کاهش دهد (Aple and Hirt, 2004; Reddy *et al.*, 2005; Sairam *et al.*, 1997; Turkan *et al.*, 2005).

اصلاح برای تحمل به تنش یکی از اهداف اصلی برنامه‌های به‌نژادی در گیاهان مختلف است. در مناطق نیمه‌خشک که پراکنش بارندگی متناسب نیست، پتانسیل عملکرد در شرایط تنش بهترین معیار تحمل به خشکی نبوده، بلکه پایداری عملکرد و مقایسه میزان آن در شرایط تنش و عدم تنش، به‌عنوان معیار مناسب‌تری برای واکنش ارقام به تنش رطوبتی معرفی شده‌اند (Simane *et al.*, 1993). طبق نتایج Clark و همکاران (۱۹۹۲) ارزیابی عملکرد ژنوتیپ‌ها در هر دو شرایط تنش و بدون تنش اولین مرحله برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش است. شاخص‌های متعددی برای انتخاب ژنوتیپ‌ها بر مبنای وضعیت عملکرد آن‌ها در محیط‌های دارای تنش و بدون تنش پیشنهاد شده است که بر مبنای آن‌ها ژنوتیپ‌های دارای پایداری عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش شناسایی می‌شوند. حساسیت به خشکی یک ژنوتیپ معمولاً بر اساس میزان کاهش عملکرد در شرایط تنش خشکی بیان می‌شود (Blum, 2011). ابوالحسنی و سعیدی (۱۳۸۵) با انجام تحقیقی بر روی لاین‌های گلرنگ در دو محیط تنش و بدون تنش خشکی شاخص تحمل به تنش (STI) را به‌عنوان بهترین شاخص تحمل به خشکی جهت تشخیص ژنوتیپ‌های متحمل و حساس معرفی نمودند.

آزمایش‌های اندکی در نسل‌های پیشرفته برای مشاهده پاسخ به انتخاب و تعیین کارایی روش‌های انتخاب در محصولات مختلف انجام شده است (Bisen *et al.*, 1985). تعیین روش انتخاب مناسب برای تولید لاین‌های پر عملکرد در گیاهان خودگشن آسان نیست (Bisen *et al.*, 1985) و عموماً

یک‌ساله و طبیعتاً پاییزه است، اما در این جنس گونه‌های وحشی دوساله نیز وجود دارند (خواججه‌پور، ۱۳۸۴). گلرنگ دارای یک ریشه مستقیم است که معمولاً تا عمق دو تا سه متری در خاک نفوذ می‌کند به همین دلیل گیاه گلرنگ نسبت به سایر گیاهان دانه روغنی به خشکی متحمل‌تر است (زینلی، ۱۳۷۸).

تنش خشکی شایع‌ترین عامل محدودکننده تولید گیاهان زراعی است و باعث تغییر جنبه‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و متابولیک در گیاهان می‌شود. از آنجایی که تحمل به خشکی، یک ویژگی پیچیده است، ارزیابی دقیق و شناسایی صفات مرتبط با تحمل تنش خشکی، نیاز به دانش دربارۀ مراحل رشد گیاه از جوانه‌زنی تا رسیدگی دارد (Chigeza *et al.*, 2014). اگرچه گلرنگ به‌عنوان یک گیاه متحمل و سازگار به مناطق خشک همانند اغلب مناطق ایران شناخته شده است (Ebrahimi *et al.*, 2016)، به‌رحال در برابر تنش خشکی با کاهش عملکرد همراه است. برخی مطالعات نشان داده است که تنش ناشی از کمبود آب سبب کاهش رشد قسمت‌های مختلف گیاه اعم از ریشه‌ها و اندام‌های هوایی، کاهش سطح برگ، ارتفاع، وزن خشک، قطر دهانه روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز، تشدید تخریب آنزیم‌ها، افزایش تجمع اسیدهای آمینه و کاهش غلظت کلروفیل می‌شود (Jangir and Singh, 1996). کلروفیل یکی از مهم‌ترین اجزای کلروپلاست برای فتوسنتز است و محتوای نسبی کلروفیل با میزان فتوسنتز همبستگی مثبت دارد (Anjum *et al.*, 2011). کاروتنوئیدها نیز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی نقش کلیدی در دریافت نور، کاهش آثار مخرب تنش اکسیداتیو و مکانیسم حفاظت نوری دارند (Jaleel *et al.*, 2009; Wilson *et al.*, 2008). بسیاری از پژوهشگران اظهار کرده‌اند که تحت تنش خشکی غلظت کل کلروفیل، کاروتنوئید و نسبت کلروفیل a به b کاهش می‌یابد و سرعت کاهش در ژنوتیپ‌های حساس نسبت به ژنوتیپ‌های محتمل شدیدتر است (Ebrahimiyan *et al.*, 2012; El-Tayeb, 2006). تجمع پرولین یکی از اولین واکنش‌های گیاه به تنش خشکی است تا میزان آسیب به

زراعی متحمل به خشکی ایجاد خواهد نمود. نتایج مطالعه Majidi و همکاران (۲۰۱۱) نشان داده که گونه وحشی *C. oxyacanthus* از پایداری عمومی بالایی تحت شرایط تنش خشکی برخوردار است و از این رو می‌تواند به‌عنوان منبعی ژنی مفیدی برای انتقال ژن‌های مقاومت به خشکی به گونه اهلی باشد. همچنین در مطالعه‌ای دیگر تحمل بالا به خشکی در گونه‌ی *C. palaestinus* تأیید شده است. Amini و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که عملکرد بذر و کیفیت آن در گلرنگ وابستگی شدیدی به افزایش در محتوای نسبی آب برگ، میزان کربوهیدرات و پروتئین در تنش خشکی دارد. در مطالعه‌ی Jabbari و عبادی (۲۰۱۲) همبستگی مثبت بین عملکرد دانه و محتوای کلروفیل در شرایط تنش گزارش شده است. با این حال اطلاعات کمی درباره مکانیسم‌های فیزیولوژیک تحمل خشکی در گونه‌های وحشی و زراعی گیاه گلرنگ و نتایج حاصل از تلاقی آنها موجود است. اهداف این مطالعه (۱) بررسی تغییرات فیزیولوژیک در لاین‌های حاصل از تلاقی‌های بین‌گونه‌ای گلرنگ در شرایط تنش خشکی و یافتن ارتباط بین صفات (۲) مطالعه واکنش صفات فیزیولوژیک در گروه‌های انتخاب‌شده از لاین‌ها براساس تنوع عملکرد دانه است.

مواد و روش‌ها

مطالعه اول: ارزیابی ژنوتیپ‌های حاصل از تلاقی بین‌گونه‌ای از نظر صفات فیزیولوژیک در نسل F4: تلاقی‌های بین سه گونه به‌صورت $Carthamus tinctorius$ (♀) × $Carthamus tinctorius$ (♂) (TP) و $Carthamus tinctorius$ (♀) × $Carthamus oxyacanthus$ (♂) (TO) و $Carthamus tinctorius$ (♀) × $Carthamus oxyacanthus$ (♂) (PO) در سال ۱۳۹۰ توسط شیراوند و همکاران (شیراوند و مجیدی، ۱۳۹۲) انجام شد و سپس لاین‌ها تا نسل چهارم به روش خودگشتی جلو برده شدند. مواد ژنتیکی مورد استفاده در این مطالعه ۱۳، ۱۵ و ۱۴ ژنوتیپ به‌ترتیب از جمعیت‌های بین‌گونه‌ای TP، PO و TO به‌همراه سه والد (در مجموع ۴۵ لاین) بود. مواد ژنتیکی در سال ۱۳۹۴ در دو محیط رطوبتی

زمان‌بر و پرهزینه هستند (Bisen et al., 1985). یک متخصص به‌نژادی مجبور است برخی از ژنوتیپ‌های رضایت‌بخش را در نسل‌های اولیه و براساس پارامترهای خاصی انتخاب کند، در صورتی‌که در مورد کارایی روش‌های انتخاب در نسل‌های اولیه و در محیط‌های مختلف، به اندازه کافی پژوهش نشده است. تولید ارقام اصلاح‌شده در گونه‌های خودگشن مانند گلرنگ، با ایجاد تنوع ژنتیکی و سپس انتخاب ژنوتیپ‌های نوترکیب مطلوب انجام می‌شود (Sarutayophat and Nualsri, 2010). روش‌های متعددی برای انتخاب وجود دارد که اصلاح‌کنندگان براساس اینکه کدام روش برای رسیدن به اهداف آن‌ها مناسب‌تر است، آن‌ها را بررسی می‌کنند (Sarutayophat and Reynolds, 2010). همکاران (Nualsri, 2010) بر پتانسیل استفاده از معیارهای انتخاب مورفوفیزیولوژیک برای بهبود غیرمستقیم عملکرد دانه که به‌طور بالقوه می‌تواند فرآیند انتخاب را مؤثرتر کند، تأکید کرده‌اند. ولی استفاده از این استراتژی به‌دلیل فقدان آگاهی در مورد صفات ثانویه وابسته به عملکرد دانه در یک برنامه اصلاحی گسترده به خوبی مؤثر نبوده است (Richards, 1996).

گونه‌های وحشی گلرنگ منبع مهمی از ژن‌های مفید هستند که می‌توان از آنها هم برای گسترش پایه ژنتیکی موجود و هم برای ایجاد ارقام با صفات مطلوب زراعی استفاده کرد. بدیهی است تنوع ژنتیکی درون گونه زراعی محدود است؛ اما گونه‌های وحشی خویشاوند از پتانسیل بسیار خوبی برای توسعه این تنوع و استفاده در برنامه‌های به‌نژادی برخوردارند (Majidi et al., 2011). از تلاقی بین‌گونه‌ای می‌توان به‌منظور افزایش تنوع ژنتیکی، انتقال سازگاری تکاملی و ایجاد گونه‌های جدید استفاده کرد (Rashed et al., 2004). خویشاوندان وحشی گلرنگ تلاقی‌پذیری بالایی با گلرنگ زراعی داشته و از تحمل بالایی به تنش‌های زیستی و غیرزیستی به‌ویژه خشکی برخوردارند. همچنین گونه‌های وحشی پتانسیل بالایی در جهت انتقال ژن‌های تحمل به تنش به گونه زراعی دارند. از این‌رو بررسی امکان انتقال ژن‌های تحمل به تنش‌ها از گونه‌های وحشی به گونه زراعی چشم‌اندازی برای توسعه ارقام

ظاهری خاک در ناحیه توسعه ریشه (۱/۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب)، p_w : چگالی آب (۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب) و ضریب مدیریت مزرعه که برای حالت بدون تنش برابر با ۰/۵ و محیط تنش برابر با ۰/۹ است.

برای ایجاد شرایط رطوبتی دارای تنش، مقدار آبی که به رژیم‌های رطوبتی مختلف در یک دوره آبیاری داده می‌شود یکسان و برابر با کمبود آب خاک تا حد FC در تیمار عدم تنش است که مقدار آن از رابطه دو محاسبه می‌شود:

$$I = (\theta_{FC} - \theta_{ini}) \times D \times (\rho_b / \rho_w) \quad (2)$$

در رابطه فوق θ_{ini} متوسط رطوبت وزنی خاک در عمق توسعه ریشه مربوط به زمان آبیاری در تیمار عدم تنش (درصد)، I عمق خالص آبیاری (سانتی‌متر)، θ_{FC} رطوبت وزنی خاک در حد ظرفیت زراعی (درصد)، D عمق فعال توسعه ریشه (سانتی‌متر) و p_b : چگالی ظاهری خاک در ناحیه توسعه ریشه (۱/۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب)، p_w : چگالی آب (۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب) است.

صفات مورد اندازه‌گیری در این آزمایش شامل عملکرد دانه، میزان فلورسانس کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل a ، b و کاروتنوئیدهای برگ، غلظت پرولین برگ، غلظت مالون دی‌آلدئید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز بود که در زیر روش اندازه‌گیری هر کدام به صورت مختصر توضیح داده شده است. یک ماه پس از اعمال تنش و در زمان ۵۰ درصد گلدهی در هر فامیل از پنج بوته به صورت تصادفی نمونه‌برداری برگ انجام شد و تا زمان استفاده برای اندازه‌گیری صفات در فریز -۸۰ نگهداری گردید.

میزان فلورسانس کلروفیل: برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل از دستگاه فلورمتر (Florimeter) مدل (OS1-FL, USA) با توانایی اندازه‌گیری فلورسانس در دو حالت روشنایی و تاریکی، استفاده شد. اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل با استفاده از سه بار اندازه‌گیری در هر پلات و پس از ۲۰ دقیقه ایجاد دوره تاریکی در برگ‌ها انجام شد.

محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید: جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک پس از اعمال تنش

عدم تنش و تنش خشکی در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با دو تکرار در هر محیط رطوبتی مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر واحد آزمایشی شامل خطوط کاشت دو متری با فاصله ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر بود. محل اجرای این آزمایش مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در ۴۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان در منطقه لورک شهرستان نجف‌آباد، با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۳ دقیقه شرقی بود.

به منظور اعمال تنش خشکی در نسل‌های مورد بررسی تمامی کرت‌ها تا ۵۰ درصد تکمه‌دهی از نظر آبیاری و اعمال مدیریت‌های زراعی به صورت یکسان در نظر گرفته می‌شود. در زمان شروع اعمال تنش، رطوبت خاک در عمق توسعه ریشه (عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متر، ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر و ۴۰ تا ۶۰ سانتی‌متر) اندازه‌گیری شد و مقدار آب آبیاری برای تأمین کمبود رطوبت خاک تا حد ظرفیت زراعی مزرعه تعیین و سپس در هر دو تیمار آبیاری اعمال گردید. تیمار آبیاری تا رسیدگی فیزیولوژیک گلرنگ ادامه یافت. برای تعیین زمان آبیاری دوم در هر تیمار به منظور کاهش تعداد نمونه‌گیری رطوبت خاک، از روش پیش‌بینی با استفاده از اندازه‌گیری تبخیر و تعرق تجمعی استفاده شد. به طوری که پس از هر آبیاری مقدار تجمعی تبخیر و تعرق (ETc) با استفاده از رابطه فائو-پنمن-مانیتث با اعمال ضریب گیاهی گلرنگ طی دوره رشد محاسبه شد (Allen et al., 1998) و زمانی که مقدار تبخیر و تعرق تجمعی به عمق مجاز تخلیه رطوبت از عمق توسعه ریشه (I_d) در تیمار مورد نظر رسید، آبیاری انجام شد. عمق مجاز تخلیه رطوبت از عمق توسعه ریشه (I_d) از طریق معادله یک محاسبه گردید:

$$I_d = (\theta_{FC} - \theta_{PWP}) \times D \times (\rho_b / \rho_w) \times MAD \quad (1)$$

در این رابطه I_d : عمق آب مجاز برای تخلیه در تیمار مورد نظر (سانتی‌متر)، θ_{FC} : رطوبت وزنی خاک در حد ظرفیت زراعی (درصد)، θ_{PWP} : رطوبت وزنی خاک در حد پژمردگی دائم (درصد)، D : عمق فعال توسعه ریشه (سانتی‌متر)، p_b : چگالی

روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. برای اندازه‌گیری پرولین، ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی تر توزین شد و در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد، به‌خوبی ساییده شد. ماده همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف‌شده را به لوله‌های درب‌دار منتقل نموده و به همه لوله‌ها مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال، اضافه شد. استانداردهایی از پرولین از غلظت صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر تهیه گردید و نهایتاً میزان جذب محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر (HITACHI U1800) اندازه‌گیری شد.

غلظت مالون دی‌آلدئید (MAD): به‌منظور تعیین غلظت مالون دی‌آلدئید در برگ، ابتدا ۰/۵ گرم برگ تازه را در محلول ۲۰ درصد تیوکلو استیک اسید ۳ (TCA) که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید ۴ بود کاملاً پودر کرده و آنگاه این مخلوط به‌مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام بن‌ماری حرارت داده شد. سپس این مخلوط را در حمام آب یخ سرد کرده و طبق روش Madhava و Sresty (۲۰۰۰) غلظت مالون دی‌آلدئید در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد و بدین ترتیب میزان پراکسیداسیون لیپیدها تعیین شد.

سنجش فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX): فعالیت CAT در ۳ میلی‌لیتر بافر واکنش با غلظت ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم با PH برابر با ۷، ۱۵ میلی‌مولار آب اکسیژنه و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی براساس روش Aebi (۱۹۸۳) اندازه‌گیری شد. سپس آنزیم در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد و میزان فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز از تقسیم فعالیت حجمی کاتالاز بر میزان پروتئین عصاره که به روش بردفورد تعیین شده بود، محاسبه گردید. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) براساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. به‌صورت خلاصه این آزمایش، در یک میلی‌لیتر بافر

خشکی، از جوان‌ترین برگ‌های توسعه‌یافته در سطح فوقانی گیاه نمونه‌برداری شد. نمونه‌های برگ‌ی تازه برای اندازه‌گیری میزان نسبی آب برگ و محتوای کلروفیل استفاده شد و سایر نمونه‌ها در ازت مایع منجمد شده و تا زمان استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در فریز ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

محتوای نسبی آب برگ با استفاده از روش Gao (۲۰۰۶) و با استفاده معادله سه به‌دست آمد. در این فرمول FW: وزن نمونه برگ‌ی تازه، TW: وزن نمونه برگ‌ی آماس‌یافته و DW: وزن خشک نمونه برگ‌ی است.

$$\text{معادله (۳)} \quad \text{RWC} = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100$$

برای اندازه‌گیری غلظت کلروفیل و کارتنوئید از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) استفاده شد. در این روش ۰/۳۳ گرم از برگ به قطعات کوچکی خرد شد و در داخل هاون چینی به‌همراه ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به‌طور کامل له گردید. نمونه حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید به‌طوری‌که باقیمانده در بالای صافی کاملاً سفید و فاقد کلروفیل باشند. عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و آنگاه میزان جذب نوری هر یک از عصاره‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (HITACHI U1800) در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. داده‌های حاصل جهت محاسبه غلظت کلروفیل (میلی‌گرم در گرم برگ تازه) به‌ترتیب در روابط زیر (معادله شماره چهار، پنج و شش) وارد گردید:

معادله (۴)

$$\text{Chl a} = \frac{[(12.21 \times \text{Abs}663) - (2.81 \times \text{Abs}646)] \times \text{mlAseton}}{\text{mgLeaf}}$$

معادله (۵)

$$\text{Chl b} = \frac{[(20.13 \times \text{Abs}646) - (5.03 \times \text{Abs}663)] \times \text{mlAseton}}{\text{mgLeaf}}$$

معادله (۶)

$$\text{Car} = \frac{[(1000 \times \text{Abs}470 - 3.27(\text{Chla}) - 104(\text{Chlb}), 227] \times \text{mlAseton}}{\text{mgLeaf}}$$

در این روابط Abs646، Abs663 و Abs470 به‌ترتیب جذب در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر است.

غلظت پرولین برگ: برای تعیین مقدار پرولین برگ، از

رطوبتی مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SAS V. 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین در هر جمعیت با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد.

نتایج و بحث

مطالعه اول: ارزیابی ژنوتیپ‌های نسل F4 حاصل از تلاقی بین‌گونه‌ای از نظر صفات فیزیولوژیک، مقایسه میانگین عملکرد دانه: نتایج مقایسه میانگین عملکرد دانه در والدین و جمعیت‌های F4 مورد بررسی در جدول ۱ آورده شده است. گونه‌های والدی *C. tinctorius*، *C. palaestinus* و *C. oxyacanthus* در شرایط عدم تنش خشکی با یکدیگر تفاوت معنی‌داری از لحاظ عملکرد دانه نشان ندادند ولی در شرایط تنش خشکی والدین *C. tinctorius* و *C. palaestinus* عملکرد دانه بیشتری نسبت به والد *C. oxyacanthus* داشتند که نشان‌دهنده تفاوت والدین از نظر تحمل به تنش خشکی است (Espanani et al., 2019; Majidi et al., 2011). تلاقی TP عملکرد دانه بیشتری نسبت به دو تلاقی دیگر در شرایط نرمال رطوبتی نشان داد ولی در شرایط تنش خشکی بین تلاقی‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

تجزیه واریانس: نتایج تجزیه واریانس مرکب در دو محیط رطوبتی برای صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه بر روی لاین‌های انتخاب‌شده از هر یک از تلاقی‌ها در نسل F4 و ژنوتیپ‌های والدینی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که تنش رطوبتی بر روی اکثر صفات اثر معنی‌داری داشت. در این آزمایش برای مشخص شدن تفاوت ژنوتیپ‌ها، مواد ژنتیکی به گروه والدینی، لاین‌های F4 و بین گروه‌های ژنوتیپی شکسته شدند. اثر ژنوتیپ، والدین و لاین‌های F4 برای همه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. برای بهتر مشخص شدن تفاوت‌ها، لاین‌ها به تلاقی TP، تلاقی PO، تلاقی TO و همچنین بین لاین‌های F4 شکسته شد. تفاوت بین جمعیت‌های مورد بررسی برای همه شاخص‌ها بجز محتوای نسبی آب برگ، آسکوریات پراکسیداز و کاتالاز معنی‌دار بود. اثر متقابل ژنوتیپ در محیط رطوبتی برای کلیه

واکنش با غلظت ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷)، ۵ میلی‌مولار آسکوربیک اسید، ۰/۵ میلی‌مولار آب اکسیژنه و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی انجام شد و کاهش جذب آسکوریات پراکسیداز در اثر فعالیت APX با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد.

مطالعه دوم: تأثیر انتخاب برای عملکرد دانه بر روی صفات فیزیولوژیک در نسل F4: برای این منظور تمامی نتایج تلاقی‌های بین‌گونه‌ای در نسل F3 (حدود ۲۰۰ لاین) برای صفات مورفولوژیک و زراعی در سال ۱۳۹۳ مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس تعدادی لاین براساس سه روش زیر، انتخاب شدند (انتخاب در نسل F3) و نسل F4 حاصل برای تعیین اثر انتخاب برای عملکرد دانه بر روی صفات فیزیولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفتند.

- انتخاب بالاترین ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد دانه در نسل F3: تعداد ۵ لاین براساس بیشترین عملکرد دانه در محیط نرمال رطوبتی

- انتخاب پایین‌ترین ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد دانه در نسل F3: تعداد ۵ لاین براساس کمترین عملکرد دانه در محیط نرمال رطوبتی

- انتخاب برترین ژنوتیپ‌ها از نظر شاخص STI در نسل F3: تعداد ۵ لاین براساس بیشترین مقدار شاخص STI انتخاب شدند و محاسبه شاخص STI از طریق معادله شماره هفت انجام شد (Fernandez, 1992):

$$\text{STI} = \frac{(Y_p \times Y_s)}{Y_p^2} \quad (V)$$

در این فرمول Y_p ، Y_s و \bar{Y}_p به ترتیب عملکرد هر ژنوتیپ تحت شرایط تنش، بدون تنش و میانگین عملکرد در شرایط عدم تنش را نشان می‌دهد.

تجزیه واریانس برای مطالعه اول به صورت طرح بلوک کاملاً تصادفی و برای مطالعه دوم به صورت طرح بلوک کاملاً تصادفی با نمونه‌برداری با دو تکرار انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش برای مطالعه اول شامل گونه‌های والدینی و جمعیت‌های حاصله بودند و برای مطالعه دوم سه روش انتخابی بودند که به صورت مجزا در هر جمعیت و هر شرایط

جدول ۱- مقایسه میانگین گونه‌های والدینی و جمعیت‌های حاصل از تلاقی بین گونه‌ای در نسل F4 برای صفت عملکرد دانه (g/m²)

گروه	علامت اختصاری	نرمال	خشکی
والدین	T	۲۲۶/۰۵ ^a ±۴۰/۹۴	۱۲۷/۴۹ ^a ±۲۰/۲۸
	P	۲۲۵/۰۹ ^a ±۳۰/۴۱	۱۵۳/۲۳ ^a ±۲۲/۳۸
	O	۱۱۵/۷۹ ^a ±۳/۵۹	۶۴/۶۲ ^b ±۱۵/۶۲
جمعیت‌ها	TP	۲۴۳/۴۲ ^a ±۳۸/۲۱	۱۲۵/۲۲ ^a ±۱۰/۷۴
	PO	۲۲۷/۵۰ ^b ±۲۲/۰۴	۱۱۴/۳۷ ^a ±۲۳/۸۴
	TO	۲۲۴/۵۴ ^b ±۲۶/۳۷	۱۲۴/۶۳ ^a ±۵/۲۶

در هر ستون و هر گروه میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

†تلاقی‌ها: TP: *C. tinctorius* × *C. palaestinus*, PO: *C. palaestinus* × *C. oxyacanthus*, TO: *C. tinctorius* × *C. oxyacanthus*
C. tinctorius: T, *C. palaestinus*: P, *C. oxyacanthus*: O

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک در گونه‌های والدینی و جمعیت‌های نسل F4 تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ در دو محیط رطوبتی

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای نسبی آب برگ	پرولین	مالون دی‌آلدئید	کلروفیل a	کلروفیل b
محیط رطوبتی (محیط)	۱	۱۹۳۶۹**	۶۵۸۹**	۱۶۸/۲۸	۲/۲۰**	۰/۸۱**
تکرار (محیط)	۲	۳/۳۶	۳۲/۸۲	۲۱/۰۲**	۰/۰۱	۰/۰۰۹
گروه ژنوتیپی	۴۴	۴۰/۲۵**	۵۳/۳۹**	۳/۴۶**	۰/۰۲**	۰/۰۰۸**
بین دو گروه ژنوتیپی (والدین و جمعیت)	۱	۹/۳۹	۷۵/۹۲	۱۱/۱۴*	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
والدین	۲	۲۸/۵۸*	۳۷/۸۱**	۰/۳۹**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۷**
جمعیت	۴۱	۴۱/۵۷**	۵۳/۶۰**	۳/۴۳**	۰/۰۲**	۰/۰۰۸*
بین جمعیت‌ها	۲	۳۳/۶۲	۹۸/۸۵*	۱۰/۴۲**	۰/۰۷**	۰/۰۱**
جمعیت TP	۱۲	۶۰/۸۲**	۲۸/۶۸**	۲/۶۵**	۰/۰۲**	۰/۰۱**
جمعیت PO	۱۴	۲۷/۳۹**	۷۷/۳۲	۳/۸۹**	۰/۰۲**	۰/۰۰۶**
جمعیت TO	۱۳	۴۰/۳۱**	۴۴/۱۰**	۲/۵۶**	۰/۰۲**	۰/۰۰۳**
گروه ژنوتیپی × محیط	۴۴	۴۷/۹۳	۴۵/۹۲**	۲/۴۵**	۰/۰۲**	۰/۰۰۵**
بین دو گروه ژنوتیپی × محیط	۱	۰/۲۰	۹۳/۷۰	۰/۳۴	۰/۰۲	۰/۰۰۴
والدین × محیط	۲	۴۹/۷۵*	۱۳/۰۰**	۱/۳۲**	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۶**
محیط × جمعیت	۴۱	۴۹/۰۱**	۴۶/۳۷**	۲/۵۶**	۰/۰۲**	۰/۰۰۵**
محیط × بین جمعیت‌ها	۲	۱۰۴/۹۸*	۶۵/۲۴	۳/۷۲	۰/۰۴*	۰/۰۳**
محیط × TP جمعیت	۱۲	۸۲/۴۴**	۲۹/۳۲	۱/۱۸*	۰/۰۲**	۰/۰۰۶**
محیط × PO جمعیت	۱۴	۳۲/۳۵**	۷۱/۸۲	۲/۹۱*	۰/۰۲**	۰/۰۰۵**
محیط × TO جمعیت	۱۳	۲۷/۴۷**	۳۱/۷۸**	۳/۲۶**	۰/۰۱**	۰/۰۰۳**
خطا	۸۸	۲/۴۴	۸/۸۸	۱/۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۹

* P < 0.05, ** P < 0.01

تلاقی‌ها TP: *C. tinctorius* × *C. palaestinus*, PO: *C. palaestinus* × *C. oxyacanthus*, TO: *C. tinctorius* × *C. oxyacanthus*

ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک در گونه‌های والدینی و جمعیت‌های نسل F4 تلاقی بین گونه‌های گلرنگ در دو محیط رطوبتی

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a/b	کلروفیل a+b	کارتنوئید	فلورسانس کلروفیل	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز
محیط رطوبتی (محیط)	۱	۳۲/۶۷**	۵/۶۹**	۱/۴۲**	۱/۰۶**	۲۲/۹۲**	۳/۰۰**
تکرار (محیط)	۲	۰/۹۶*	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۱۸	۰/۰۱
گروه ژنوتیپی	۴۴	۱/۴۶**	۰/۰۳**	۰/۰۰۹**	۰/۰۰۴**	۰/۸۲**	۰/۰۳**
بین دو گروه ژنوتیپی (والدین و جمعیت)	۱	۰/۴۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴**	۰/۵۹	۰/۰۰۰۳
والدین	۲	۲/۷۶**	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۰۵**	۰/۶۸**	۰/۰۶**
جمعیت	۴۱	۱/۴۲**	۰/۰۴**	۰/۰۱**	۰/۰۰۳**	۰/۸۳**	۰/۰۳**
بین جمعیت‌ها	۲	۳/۲۹**	۰/۰۹**	۰/۰۲**	۰/۰۱**	۰/۱۴	۰/۰۰۶
TP جمعیت	۱۲	۱/۶۳**	۰/۰۴**	۰/۰۱**	۰/۰۰۲*	۱/۱۰**	۰/۰۱**
PO جمعیت	۱۴	۱/۴۲**	۰/۰۳**	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۴**	۰/۷۴*	۰/۰۵**
TO جمعیت	۱۳	۰/۹۳**	۰/۰۳**	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۲**	۰/۸۱**	۰/۰۵**
گروه ژنوتیپی × محیط	۴۴	۱/۳۱**	۰/۰۳**	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۳**	۱/۰۳**	۰/۰۲**
بین دو گروه ژنوتیپی × محیط	۱	۰/۷۱	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۷	۰/۰۲
والدین × محیط	۲	۱/۰۴	۰/۰۱**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۳**	۰/۳۹**	۰/۰۴*
محیط × جمعیت	۴۱	۱/۳۴**	۰/۰۲**	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۳**	۱/۰۹**	۰/۰۲**
محیط × بین جمعیت‌ها	۲	۱/۸۸	۰/۱۴**	۰/۰۳**	۰/۰۰۰۰۲	۲/۸۱**	۰/۰۲
محیط × TP جمعیت	۱۲	۱/۱۷**	۰/۰۳**	۰/۰۰۹**	۰/۰۰۲	۱/۰۱**	۰/۰۱**
محیط × PO جمعیت	۱۴	۰/۸۷**	۰/۰۲**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۳**	۱/۴۱**	۰/۰۱
محیط × TO جمعیت	۱۳	۱/۹۳**	۰/۰۱**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۳**	۰/۵۴**	۰/۰۳**
خطا	۸۸	۰/۲۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۷	۰/۲۳	۰/۰۰۷

* و ** به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد است.

تلاقی‌ها TP: *C. tinctorius* × *C. palaestinus*، PO: *C. palaestinus* × *C. oxyacanthus*، TO: *C. tinctorius* × *C. oxyacanthus*

نتیجه تعرق و فتوسنتز بالاتر در گیاهان می‌شود (Medrano et al., 2002). مقایسه میانگین جمعیت‌های TP، PO و TO برای این صفت نشان داد در شرایط نرمال جمعیت‌های TP و PO میانگین بالاتری نسبت به جمعیت TO داشتند ولی در شرایط تنش خشکی تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌های مورد بررسی مشاهده نشد (جدول ۳). تنش خشکی در مرحله پرشدن دانه تأثیر مخربی بر روی محتوای نسبی آب برگ، هدایت روزنه‌ای، دمای برگ، تنظیم اسمزی و وزن برگ بر روی گلرنگ داشت (Pasban Eslam, 2011).

شاخص‌ها بجز محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و نشان داد که واکنش اکثر ژنوتیپ‌ها در برابر محیط رطوبتی متفاوت بوده است (جدول ۲).

محتوای آب نسبی برگ: براساس مقایسه میانگین گونه‌های والدینی، سه گونه والدینی در شرایط نرمال تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند، ولی در شرایط تنش خشکی والد *C. oxyacanthus* محتوای آب نسبی برگ بیشتری نسبت به *C. tinctorius* و *C. palaestinus* داشت (جدول ۳). محتوای نسبی آب بالاتر باعث حفظ هدایت روزنه‌ای و در

تنش خشکی روند مالون دی‌آلدئید در میان جمعیت‌های مورد بررسی به ترتیب $PO \leq TP \leq TO$ و همان‌طور که در بالا نیز بیان شده در میان گونه‌های والدینی به صورت $O < P = T$ بود (جدول ۳ و ۴). بنابراین به نظر می‌رسد که کاهش در مالون دی‌آلدئید با ساختار ژنتیکی گیاه مرتبط است، و ادغام ژنوم دو والد وحشی ممکن است منجر به بهبود نتایج این تلاقی‌ها شود. در حال حاضر مشخص شده است که پراکسیدشدن غشاهای چربی توسط رادیکال‌های آزاد، بازتاب و اندازه‌گیری آسیب ناشی از استرس در سطح سلولی است (Jain et al., 2001). افزایش کمتر مالون دی‌آلدئید در جمعیت TO نشان‌دهنده حفاظت بهتر این جمعیت در مقابل آسیب‌های اکسایشی است.

غلظت کلروفیل a, b, a+b, a/b و کارتنوئید: مقایسه

میانگین گونه‌های والدینی در شرایط نرمال نشان داد که گونه‌ی *C. oxyacanthus* کلروفیل a و غلظت کارتنوئید بیشتری نسبت به والد *C. tinctorius* و *C. palaestinus* دارد (جدول ۳). گونه‌ی *C. palaestinus* کلروفیل a/b بالاتری نسبت به گونه‌های *C. tinctorius* و *C. oxyacanthus* نشان داد. گونه‌های *C. tinctorius* و *C. oxyacanthus* کلروفیل b بالاتری نسبت به *C. palaestinus* نشان داد. افزایش و کاهش غلظت کلروفیل گیاه به‌عنوان عکس‌العملی در برابر تنش خشکی در مطالعات متعددی گزارش شده است (Garcia-Valenzuela et al., 2005; Jiang and Huang, 2001).

شرایط تنش خشکی روند کلروفیل a در میان گونه‌های والدینی مورد بررسی به ترتیب $O < T < P$ بود، ولی برای شاخص‌های کلروفیل b، کلروفیل a+b، کلروفیل a/b و کارتنوئید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که احتمالاً نشان‌دهنده‌ی یکسان‌بودن ظرفیت فتوسنتزی این سه گونه در شرایط تنش است (جدول ۳). کاهش مقدار کلروفیل a، b و به تبع آن a+b در شرایط تنش خشکی می‌تواند به دلیل فعالیت آنزیم کلروفیلاز و تخریب کلروفیل و جلوگیری از ساخت پیگمان‌های فتوسنتزی باشد (Singh and Dubey, 1995). در طول پروسه‌ی تخریب کلروفیل در شرایط تنش، کلروفیل b به کلروفیل a تبدیل می‌شود و این احتمالاً دلیل افزایش نسبت کلروفیل a به b در

غلظت پرولین برگ: مقایسه میانگین والدین در شرایط

نرمال نشان داد که گونه‌ی *C. tinctorius* غلظت پرولین بالاتری نسبت به *C. palaestinus* و *C. oxyacanthus* دارد. در شرایط تنش خشکی گونه‌های *C. tinctorius* و *C. palaestinus* بالاترین میانگین را برای صفات محتوای پرولین داشتند (جدول ۳). همچنین مقایسه میانگین بین جمعیت‌های TP، PO و TO (جدول ۴) در محیط نرمال نشان داد که جمعیت PO بالاترین میانگین را برای غلظت پرولین به خود اختصاص داده، درحالی‌که در شرایط تنش خشکی تفاوت معنی‌داری از لحاظ این صفت بین جمعیت‌های مورد بررسی مشاهده نشد. عدم معنی‌داری غلظت پرولین تحت تنش خشکی در جمعیت‌های بین‌گونه‌ای علی‌رغم معنی‌داری والدین در همین شرایط می‌تواند نشان‌دهنده ادغام ژنوم‌های سه گونه در نتایج و در نتیجه عملکرد یکسان از نظر این پارامتر تحت شرایط تنش خشکی باشد. در مطالعه Sajedi و همکاران (۲۰۱۲) چهار ژنوتیپ گلرنگ (شامل ژنوتیپ بومی اصفهان، Esfahan-14، PI537، 598 و IL111)، ژنوتیپ‌های بومی اصفهان و Esfahan-14 تحمل به خشکی بالایی به‌واسطه‌ی میزان بالای پرولین نشان دادند. آنها همچنین گزارش کردند که رقم متحمل به خشکی با پرولین بالا در ساخت آنزیم PC5 سنتتاز (یکی از آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی پرولین) افزایش نشان داد (Sajedi et al., 2012).

غلظت مالون دی‌آلدئید: مقایسه میانگین گونه‌های والدینی

در شرایط نرمال نشان داد که گونه‌های *C. tinctorius* و *C. oxyacanthus* مالون دی‌آلدئید بالاتری نسبت به *C. palaestinus* دارند (جدول ۳). در شرایط تنش خشکی گونه‌های *C. tinctorius* و *C. palaestinus* بالاترین میانگین را برای غلظت مالون دی‌آلدئید نشان دادند (جدول ۳). براساس مقایسه میانگین جمعیت‌های مورد بررسی (جدول ۴) مشخص شد که شاخص مالون دی‌آلدئید در جمعیت PO بیشترین مقدار بود و این جمعیت با جمعیت TP تفاوت معنی‌داری نشان نداد. تجمع مالون دی‌آلدئید معمولاً به‌عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها است (Jain et al., 2001). در شرایط

جدول ۳- مقایسه میانگین (\pm SD) گونه‌های والدینی برای صفات فیزیولوژیک در شرایط نرمال و تنش خشکی

صفات	جمعیت [†]	شرایط نرمال	شرایط خشکی	میانگین
محتوای نسبی آب برگ (/.)	T	62/50 ^a ±2/12	40/50 ^b ±2/12	51/50 ^b
	P	65/50 ^a ±0/70	38/00 ^b ±2/82	51/75 ^b
	O	63/00 ^a ±1/41	49/50 ^a ±0/70	56/25 ^a
غلظت پرولین (میکرومول بر گرم برگ تازه)	T	13/10 ^a ±0/14	31/60 ^a ±0/14	22/35 ^a
	P	11/50 ^{ab} ±0/70	32/00 ^a ±1/41	21/75 ^a
	O	10/00 ^b ±0/01	23/50 ^b ±0/70	16/75 ^b
مالون دی‌آلدئید (نانومول بر کیلوگرم برگ تازه)	T	6/82 ^a ±0/01	9/00 ^a ±0/01	7/91 ^a
	P	5/60 ^b ±0/14	9/05 ^a ±0/07	7/33 ^b
	O	6/85 ^a ±0/07	8/00 ^b ±0/01	7/43 ^b
کلروفیل a (میلی گرم بر گرم برگ تازه)	T	0/64 ^c ±0/02	0/39 ^b ±0/01	0/52 ^c
	P	0/68 ^b ±0/02	0/41 ^a ±0/01	0/55 ^b
	O	0/78 ^a ±0/03	0/36 ^c ±0/007	0/58 ^a
کلروفیل b (میلی گرم بر گرم برگ تازه)	T	0/31 ^a ±0/02	0/15 ^a ±0/04	0/23 ^a
	P	0/19 ^b ±0/02	0/09 ^a ±0/007	0/15 ^b
	O	0/33 ^a ±0/02	0/07 ^a ±0/007	0/20 ^a
نسبت کلروفیل a/b	T	2/03 ^b ±0/04	2/69 ^a ±0/66	2/36 ^b
	P	3/52 ^a ±0/27	4/33 ^a ±0/47	3/93 ^a
	O	2/38 ^b ±0/09	4/88 ^a ±0/36	3/63 ^a
کلروفیل a+b	T	0/95 ^b ±0/04	0/54 ^a ±0/05	0/74 ^a
	P	0/88 ^c ±0/04	0/50 ^a ±0/007	0/69 ^b
	O	1/11 ^a ±0/06	0/44 ^a ±0/01	0/77 ^a
کارتنوئید (میلی گرم بر گرم برگ تازه)	T	0/47 ^b ±0/02	0/27 ^a ±0/02	0/37 ^a
	P	0/44 ^c ±0/02	0/25 ^a ±0/003	0/35 ^b
	O	0/55 ^a ±0/03	0/22 ^a ±0/007	0/40 ^a
فلورسانس کلروفیل	T	0/78 ^b ±0/01	0/69 ^a ±0/007	0/74 ^b
	P	0/85 ^a ±0/007	0/64 ^b ±0/007	0/75 ^a
	O	0/84 ^a ±0/01	0/68 ^a ±0/01	0/76 ^a
آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	T	0/82 ^b ±0/10	1/73 ^a ±0/02	1/27 ^b
	P	0/75 ^b ±0/03	1/70 ^a ±0/03	1/23 ^b
	O	2/05 ^a ±0/07	1/88 ^a ±0/14	1/97 ^a
کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	T	0/16 ^b ±0/05	0/50 ^a ±0/009	0/33 ^b
	P	0/59 ^a ±0/14	0/53 ^a ±0/07	0/56 ^a
	O	0/24 ^{ab} ±0/01	0/45 ^a ±0/01	0/35 ^b

C. oxyacanthus :O *C. palaestinus* :P *C. tinctorius* :T[†]

در هر ستون و برای هر صفت میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

جمعیت TO میانگین بالاتری نسبت به دو جمعیت دیگر در شرایط نرمال نشان داد. در شرایط تنش خشکی جمعیت‌های PO و TO کلروفیل a و کارتنوئید بالاتری نسبت به جمعیت TP داشتند. غلظت کلروفیل در گیاهان به‌عنوان یکی از عوامل مهم در توان فتوسنتزی (Kar et al., 2007)، از پاسخ‌های

شرایط تنش است (Azizpour et al., 2010). مقایسه میانگین جمعیت‌های حاصل از تلاقی بین گونه‌ای (جدول ۴) در شرایط نرمال نشان داد که برای شاخص‌های کلروفیل b و کارتنوئید جمعیت‌های TP و PO میانگین بالاتری نسبت به جمعیت TO نشان دادند. برای نسبت کلروفیل a/b

جدول ۴- مقایسه میانگین (\pm SD) جمعیت‌های حاصل از تلاقی بین‌گونه‌ای گلرنگ برای شاخص‌های فیزیولوژیک در شرایط نرمال و تنش خشکی

صفات	جمعیت †	نرمال	خشکی	درصد تغییر	میانگین
محتوای نسبی آب برگ (%)	TP	65/44 ^a ±0/43	43/52 ^a ±0/08	-50/36 ^{**}	54/48 ^a
	PO	65/88 ^a ±0/65	43/25 ^a ±0/82	-52/37 ^{**}	54/57 ^a
	TO	61/98 ^b ±0/17	44/39 ^a ±0/11	-39/62 ^{**}	53/18 ^a
غلظت پرولین (میکرومول بر گرم برگ تازه)	TP	16/4 ^b ±0/79	27/84 ^a ±0/77	41/09 ^{**}	22/17 ^b
	PO	19/4 ^a ±0/56	29/26 ^a ±1/54	33/69 ^{**}	24/34 ^a
	TO	14/9 ^b ±0/79	29/02 ^a ±1/41	48/65 ^{**}	22/00 ^b
مالون دی آلدئید (نانومول بر کیلوگرم برگ تازه)	TP	5/22 ^a ±0/29	7/48 ^{ab} ±0/28	30/21 ^{**}	6/35 ^b
	PO	5/94 ^a ±0/22	8/10 ^a ±1/41	26/66 ^{ns}	7/02 ^a
	TO	5/58 ^a ±0/43	6/89 ^b ±1/30	19/01 ^{ns}	6/24 ^b
کلروفیل a (میلی گرم بر گرم برگ تازه)	TP	0/65 ^a ±0/009	0/38 ^b ±0/004	-71/05 ^{**}	0/57 ^b
	PO	0/70 ^a ±0/03	0/48 ^a ±0/02	-45/83 ^{**}	0/59 ^a
	TO	0/64 ^a ±0/01	0/48 ^a ±0/01	-33/33 ^{**}	0/59 ^a
کلروفیل b (میلی گرم بر گرم برگ تازه)	TP	0/29 ^a ±0/02	0/13 ^a ±0/01	-123/07 ^{**}	0/21 ^a
	PO	0/29 ^a ±0/01	0/13 ^a ±0/03	-123/07 ^{**}	0/21 ^a
	TO	0/22 ^b ±0/01	0/14 ^a ±0/01	-57/14 [*]	0/18 ^b
نسبت کلروفیل a/b	TP	2/42 ^b ±0/06	3/20 ^b ±0/31	24/37 ^{ns}	2/81 ^b
	PO	2/57 ^b ±0/01	3/76 ^a ±0/60	31/64 ^{**}	3/17 ^a
	TO	3/06 ^a ±0/04	3/52 ^{ab} ±0/20	13/06 ^{ns}	3/30 ^a
کلروفیل a+b	TP	0/94 ^a ±0/02	0/51 ^b ±0/009	-84/31 ^{**}	0/73 ^b
	PO	0/99 ^a ±0/05	0/61 ^a ±0/03	-62/29 ^{**}	0/80 ^a
	TO	0/86 ^b ±0/03	0/63 ^a ±0/03	-36/50 ^{**}	0/74 ^b
کارتونئید (میلی گرم بر گرم برگ تازه)	TP	0/47 ^a ±0/01	0/25 ^b ±0/004	-88/00 ^{**}	0/36 ^b
	PO	0/49 ^a ±0/02	0/30 ^a ±0/01	-63/33 ^{**}	0/40 ^a
	TO	0/43 ^b ±0/01	0/31 ^a ±0/01	-38/70 ^{**}	0/37 ^b
فلورسانس کلروفیل	TP	0/74 ^c ±0/04	0/59 ^a ±0/01	-25/42 [*]	0/67 ^b
	PO	0/77 ^a ±0/02	0/62 ^a ±0/003	-24/19 ^{**}	0/70 ^a
	TO	0/76 ^b ±0/01	0/61 ^a ±0/01	-24/59 ^{**}	0/68 ^a
آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	TP	1/25 ^a ±0/04	2/29 ^a ±0/08	45/41 ^{**}	1/77 ^a
	PO	1/20 ^a ±0/004	2/13 ^{ab} ±0/08	43/66 ^{**}	1/67 ^a
	TO	1/67 ^a ±0/02	1/83 ^b ±0/10	11/47 ^{ns}	1/77 ^a
کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	TP	0/31 ^a ±0/009	0/54 ^a ±0/02	42/59 ^{**}	0/40 ^a
	PO	0/27 ^a ±0/02	0/54 ^a ±0/03	50/00 ^{**}	0/42 ^a
	TO	0/26 ^a ±0/02	0/53 ^a ±0/01	50/94 ^{**}	0/43 ^a

†TP: *C. tinctorius*× *C. palaestinus*, PO: *C. palaestinus*× *C. oxyacanthus*, TO: *C. tinctorius*× *C. oxyacanthus*

در هر ستون و برای هر صفت میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی‌داری ندارند. *, **, ns به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح 5 و 1 درصد و عدم معنی‌داری است.

افزایش غلظت کارتونئید در شرایط تنش خشکی تحت تأثیر مدت و میزان تنش و نوع ژنوتیپ گیاهی است و در چندین گونه گزارش شده است (Abbasi et al., 2014; Ebrahimiyan

فیزیولوژیک به تنش خشکی است که منجر به عدم کاهش معنی‌دار عملکرد دانه این دو جمعیت (PO و TO) نسبت به جمعیت TP در شرایط تنش خشکی شده است. کاهش و

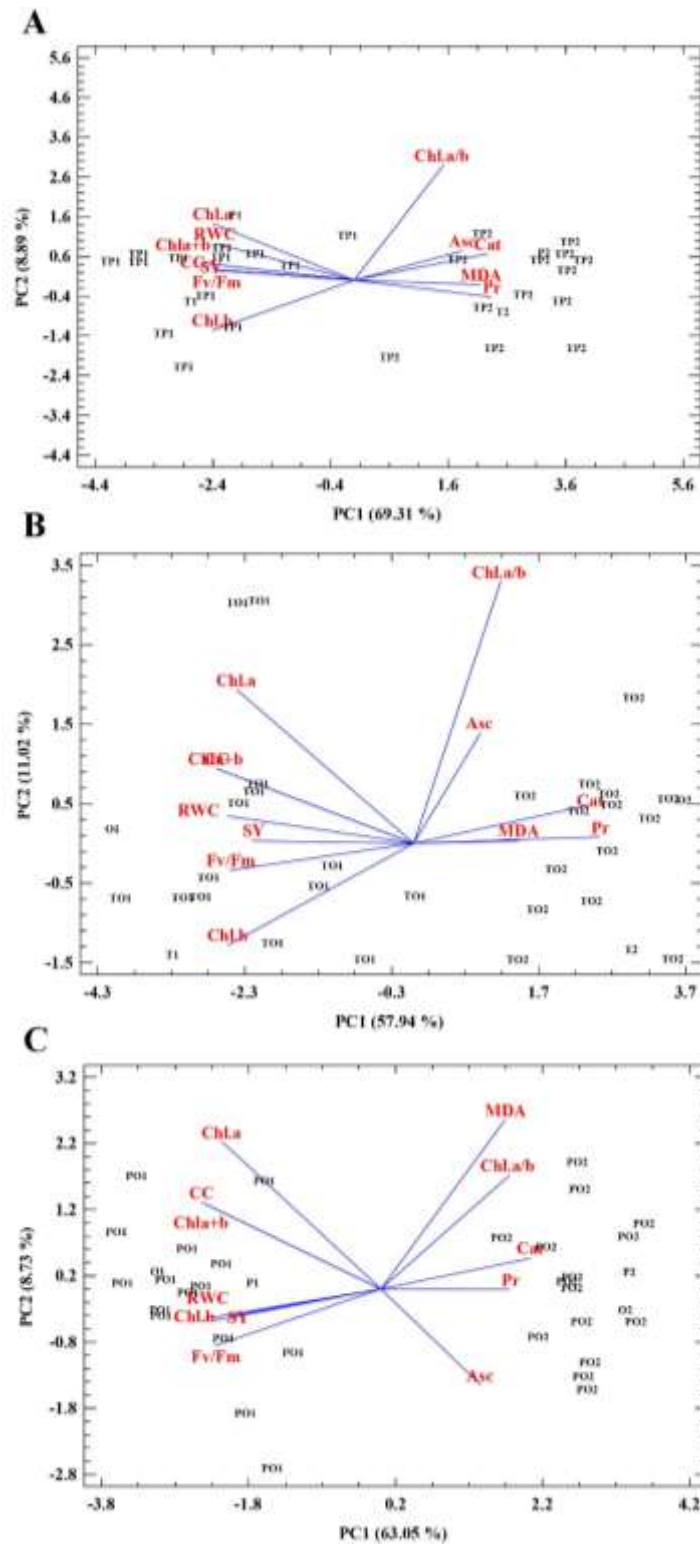
مشاهده شد.

در مجموع نتایج مقایسه میانگین گونه‌های والدینی نشان داد گونه‌های *C. tinctorius* و *C. palaestinus* غلظت پرولین و مالون دی‌آلدئید بالا داشتند ولی از طرفی کلروفیل a بالایی نیز داشتند و لذا عملکرد این دو گونه بالاتر از گونه‌ی *C. oxyacanthus* بود. همچنین این سه گونه از نظر شاخص‌های کلروفیل b، کلروفیل a+b، نسبت دو کلروفیل a/b و کارتنوئید تفاوت معنی‌داری با یکدیگر در شرایط تنش خشکی نشان ندادند که نشان‌دهنده‌ی ظرفیت فتوسنتزی و آنتی‌اکسیدانی این سه گونه است. از آنجایی که عملکرد ماده خشک و متعاقباً آن عملکرد دانه گیاه مستقیماً با عملکرد فتوسنتزی گیاه مرتبط است تنش خشکی منجر به کاهش ظرفیت فتوسنتزی و در نتیجه کاهش عملکرد این سه گونه شده است ولی با این حال دو گونه‌ی *C. tinctorius* و *C. palaestinus* عملکرد بیشتری نسبت به *C. palaestinus* و *C. tinctorius* نشان دادند. این دو گونه (*C. palaestinus* و *C. tinctorius*) به‌واسطه قطر غوزه بالاتر، تعداد دانه در غوزه بالاتر، وزن صد دانه بالاتر دارای عملکرد بیشتری (Spanani et al., 2019) نسبت به گونه *C. oxyacanthus* هستند. به‌صورت کلی این نتایج نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف رفتار متفاوتی برای کاهش اثر تنش خشکی نشان می‌دهند و بنابراین تلاقی بین این گونه‌ها ممکن است منجر به ایجاد نتایج متحمل شود. همچنین نتایج مقایسه میانگین جمعیت‌های مورد بررسی نتایج نشان داد که بین این جمعیت‌ها از نظر تحمل به تنش خشکی بر مبنای شاخص‌های فیزیولوژیک تفاوت وجود ندارد، درحالی‌که تنوع درون هر جمعیت از نظر این شاخص‌های (تنوع بین لاین‌ها) بسیار بالا بود. این نتایج می‌تواند تحمل هر دو گونه‌ی وحشی به تنش خشکی را اثبات کند که به‌صورت ژنتیکی به نتایج هیبرید منتقل شده است. وجود آل‌های مطلوب صفات زراعی در گلرنگ وحشی تأیید شده است (Pearl and Burke, 2014). به‌نظر می‌رسد که تلاش برای دستیابی به تنوع ژنتیکی والدین وحشی همان‌طور که برای گیاهان زراعی فراوان دیگر (مانند گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، برنج و گندم) (Hajjar and

Tian et al., 2013). غلظت کلروفیل، یک پارامتر برای تعیین تجمع زیست‌توده و همچنین یک شاخص مهم برای ارزیابی تحمل به تنش محیطی است که معمولاً در مطالعات تنش گرمایی، شوری و خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Tian et al., 2013). تنش خشکی باعث پیری برگ می‌شود و غلظت کلروفیل را کاهش می‌دهد (Yang et al., 2001).

فلورسانس کلروفیل: مقایسه میانگین گونه‌های والدینی در شرایط نرمال نشان داد که گونه‌های *C. palaestinus* و *C. oxyacanthus* فلورسانس کلروفیل بیشتری نسبت به گونه‌ی *C. tinctorius* داشتند. در شرایط تنش خشکی گونه‌های *C. tinctorius* و *C. oxyacanthus* میانگین بیشتری برای این شاخص‌ها دارا بودند (جدول ۳). در مقایسه میانگین جمعیت‌های مورد بررسی در شرایط نرمال بالاترین میانگین برای صفت فلورسانس کلروفیل در جمعیت PO مشاهده شد ولی در شرایط تنش تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌های مورد بررسی مشاهده نشد (جدول ۴).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: مقایسه میانگین گونه‌های والدینی (جدول ۳) در شرایط نرمال نشان داد که *C. oxyacanthus* آسکوربات پراکسیداز (۲/۰۵) بیشتری نسبت به والد *C. tinctorius* و *C. palaestinus* نشان داد. در همین محیط گونه‌ی *C. palaestinus* کاتالاز (۰/۵۹) بیشتری نسبت به *C. tinctorius* و *C. oxyacanthus* داشت. در شرایط تنش خشکی تفاوت معنی‌داری بین گونه‌های والدینی برای صفات آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز مشاهده نشد (جدول ۳). جمعیت TP بیشترین مقدار آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش خشکی نشان داد ولی تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌ها در محیط نرمال معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۴). برای غلظت کاتالاز تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌ها مشاهده نشد. براساس گزارش Amini و همکاران (۲۰۱۴) و Hojati و همکاران (۲۰۱۱) شاخص سطح برگ، میزان کلروفیل و شاخص پایداری غشا در گلرنگ به‌شدت تحت تأثیر شرایط کمبود آب قرار گرفته و کاهش یافتند، درحالی‌که افزایش قابل توجهی در ترکیبات آنتی‌اکسیدان، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز



شکل ۱- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به منظور بررسی ارتباط شاخص‌های فیزیولوژیک و عملکرد دانه در جمعیت‌های TP (a)، PO (b) و TO (c) در دو محیط نرمال (شماره ۱) تنش (شماره ۲)

بای پلات هر سه جمعیت بر روی دو محیط رطوبتی نرمال (Hodgkin, 2007) انجام شده است، می‌تواند توسعه گل‌رنگ را تسهیل کند (Pearl and Burke, 2014).

و تنش خشکی با استفاده از کلیه شاخص‌ها ترسیم و نتایج آن

در شکل ۱ آورده شد. براساس بای پلات در هر سه جمعیت، ژنوتیپ‌های محیط تنش و عدم تنش از یکدیگر جدا شدند. شاخص‌های نسبت کلروفیل a به b ، غلظت پروکلین، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و مالون دی‌آلدئید در هر سه جمعیت منجر به جدا شدن ژنوتیپ‌های محیط تنش شدند. این نتیجه نه تنها نشان‌دهنده‌ی افزایش شاخص‌های ذکر شده در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در محیط تنش است، بلکه اهمیت بررسی شاخص‌های فیزیولوژیک نسبت به صفات عملکردی در تفکیک دو محیط را نشان می‌دهد.

همبستگی بین شاخص‌های فیزیولوژیک در جمعیت TP (جدول ۵ پایین قطر) در محیط نرمال نشان داد که بین غلظت کارتنوئید با کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل $a+b$ همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد. آنزیم کاتالاز با شاخص‌های مالون دی‌آلدئید و کلروفیل b همبستگی مثبت نشان داد. در همین جمعیت در محیط تنش خشکی (جدول ۵ بالای قطر) همبستگی بین آنزیم کاتالاز با غلظت کلروفیل a مثبت و معنی‌دار بود. همچنین مالون دی‌آلدئید با آسکوربات پراکسیداز همبستگی مثبت نشان داد. همبستگی بین کلروفیل b و صفت کارتنوئید در این محیط نیز مثبت و معنی‌دار بود. عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی با پارامترهای کلروفیل b ، کارتنوئید و فلورسانس کلروفیل همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد. در جمعیت PO (جدول ۶ پایین قطر) در محیط نرمال غلظت کلروفیل a با پارامترهای نسبت کلروفیل a/b و کارتنوئید همبستگی مثبت نشان داد. بین پارامتر فلورسانس کلروفیل با مالون دی‌آلدئید همبستگی مثبت مشاهده شد. محتوای نسبی آب برگ با شاخص کلروفیل b همبستگی منفی و معنی‌دار نشان داد. در همین جمعیت در محیط تنش خشکی (جدول ۶ بالای قطر)، صفت مالون دی‌آلدئید با صفت کلروفیل a و کارتنوئید همبستگی مثبت و با صفت فلورسانس کلروفیل همبستگی منفی و معنی‌دار نشان داد. هر دو پارامتر کلروفیل a و b با صفت کارتنوئید همبستگی مثبت نشان دادند. وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار اجزا کلروفیل با کارتنوئید توسط Johnson و همکاران (۱۹۹۳) نیز گزارش شده است. در

جمعیت TO (جدول ۷ پایین قطر) در محیط نرمال همبستگی بین کلروفیل a با پارامتر نسبت کلروفیل a/b و کارتنوئید مثبت و معنی‌دار بود و در محیط تنش خشکی (جدول ۷ بالای قطر) نیز کارتنوئید همبستگی مثبت و معنی‌داری با کلروفیل a و b نشان داد. همچنین در محیط تنش خشکی همبستگی بین شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و آسکوربات پراکسیداز منفی و معنی‌دار بود. عملکرد دانه در شرایط تنش با پارامتر مالون دی‌آلدئید همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد. در مطالعه‌ی Ebadi و Jabbari (۲۰۱۲) همبستگی مثبت بین عملکرد دانه و محتوای کلروفیل گزارش شده است. Amini و همکاران (۲۰۱۴) نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد دانه با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) در بررسی ۶۴ ژنوتیپ گلرنگ در شرایط تنش خشکی گزارش کردند.

براساس نتایج، مشاهده شد که همبستگی بین شاخص‌ها در بعضی جمعیت‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بود و در برخی دیگر اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. برای مثال در جمعیت TP در شرایط نرمال همبستگی مثبت و معنی‌دار بین پارامتر نسبت کلروفیل a/b و کلروفیل وجود داشت که در هیچ‌کدام از جمعیت‌های دیگر مشاهده نشد. از آنجایی که وجود همبستگی‌ها می‌تواند حاکی از وجود لینکاژ ژنی یا پلیوتروپی باشد، همبستگی‌های متفاوت در سه جمعیت احتمالاً ناشی از زمینه ژنتیکی متفاوت در این سه جمعیت است، و بر این نکته دلالت دارد که وجود همبستگی با نوع جمعیت مورد بررسی ارتباط دارد. به‌طور کلی از بررسی میان شاخص‌های فیزیولوژیک مختلف با عملکرد در شرایط تنش چنین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از این شاخص‌ها برای انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی در محیط‌های خشک از کارایی بیشتری برخوردار خواهد بود. اما با توجه به ارتباطات پیچیده صفات مختلف با یکدیگر و همچنین با عملکرد انتخاب بر مبنای یک صفت تحت تأثیر سایر صفات نیز قرار می‌گیرد، بنابراین ممکن است همبستگی فنوتیپی ساده معیار مناسبی برای روابط صفات نباشد.

جدول ۵- ضرایب همبستگی فنوتیپی بین شاخص‌های فیزیولوژیک در جمعیت TP در محیط رطوبتی نرمال (پایین قطر) و تنش خشکی (بالای قطر)

صفحات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
محتوای نسبی آب برگ	۱	۰/۰۳۳	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۰۲۹	۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۲۶	۰/۳۱
غلظت پرولین	۰/۰۳۳	۱	۰/۰۴	۰/۰۲۹	۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۲۶	۰/۳۱	۰/۳۶
مالون دی آلدئید	۰/۱۱	۰/۰۴	۱	۰/۰۲۹	۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۲۶	۰/۳۱	۰/۳۶
کلروفیل a	۰/۰۲۹	۰/۰۶	۰/۰۲۹	۱	۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۲۶	۰/۳۱	۰/۳۶
کلروفیل b	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۰۶	۰/۱۱	۱	۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۲۶	۰/۳۱
کلروفیل a+b	۰/۰۰۳	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۱	۰/۰۰۳	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸
نسبت کلروفیل a/b	۰/۲۹	۰/۰۸	۰/۰۱	۰/۲۹	۰/۰۸	۰/۰۱	۱	۰/۲۹	۰/۰۸	۰/۰۱	۰/۲۹	۰/۰۸
کارتنوئید	۰/۰۰۳	۰/۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۰۳	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸
کلروفیل	۰/۳۲	۰/۱۱	۰/۳۶	۰/۰۸	۰/۹۱**	۰/۷۴**	۰/۲۶	۰/۳۲	۰/۰۸	۰/۹۱**	۰/۷۴**	۰/۲۶
فلورسانس	۰/۳۲	۰/۱۱	۰/۳۶	۰/۰۸	۰/۹۱**	۰/۷۴**	۰/۲۶	۰/۳۲	۰/۰۸	۰/۹۱**	۰/۷۴**	۰/۲۶
پراکسیداز	۰/۳۵	۰/۱۶	۰/۶۹**	۰/۲۰	۰/۶۲*	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۳۵	۰/۱۶	۰/۶۹**	۰/۲۰	۰/۶۲*
آسکوربات	۰/۳۵	۰/۱۶	۰/۶۹**	۰/۲۰	۰/۶۲*	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۳۵	۰/۱۶	۰/۶۹**	۰/۲۰	۰/۶۲*
کاتالاز	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۱۷	۰/۶۲*	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۱۷	۰/۶۲*	۰/۱۲
عملکرد دانه	۰/۳۴	۰/۰۴	۰/۱۳	۰/۲۰	۰/۷۸**	۰/۵۰	۰/۵۶*	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۰۹	۰/۵۰	۰/۵۰

* و ** به ترتیب بیانگر معنی دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد است و اعداد بدون ستاره بیانگر عدم معنی داری است.

جدول ۶- ضرایب همبستگی فنوتیپی بین شاخص‌های فیزیولوژیک در جمعیت PO در محیط رطوبتی نرمال (پایین قطر) و تنش خشکی (بالای قطر)

صفحات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
محتوای نسبی آب برگ	۱	۰/۰۷	۰/۴۵	۰/۲۴	۰/۵۶*	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۴۵	۰/۲۴	۰/۵۶*
غلظت پرولین	۰/۰۷	۱	۰/۰۱	۰/۲۴	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۲۴	۰/۰۶	۰/۵۱*
مالون دی آلدئید	۰/۴۵	۰/۰۱	۱	۰/۲۴	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۲۴	۰/۰۶	۰/۵۱*
کلروفیل a	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۱	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۲۴	۰/۰۶	۰/۵۱*
کلروفیل b	۰/۵۶*	۰/۰۶	۰/۵۶*	۰/۰۶	۱	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۵۶*	۰/۰۶	۰/۵۱*
کلروفیل a+b	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۱	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۵۶*	۰/۰۶
نسبت کلروفیل a/b	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷	۱	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۵۶*
کارتنوئید	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۱	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴	۰/۰۷
کلروفیل	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۱	۰/۰۶	۰/۵۱*	۰/۲۴
فلورسانس	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۱	۰/۰۶	۰/۵۱*
پراکسیداز	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۱	۰/۰۶
آسکوربات	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۱
کاتالاز	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱
عملکرد دانه	۰/۲۳	۰/۳۷	۰/۰۷	۰/۱۴	۰/۲۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶

* و ** به ترتیب بیانگر معنی دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد است و اعداد بدون ستاره بیانگر عدم معنی داری است.

برای عملکرد دانه بر روی پارامترهای فیزیولوژیک جمعیت‌های نسل F4: میانگین پارامترها برای نتاج حاصل از

جدول ۷- ضرایب همبستگی فنوتیپی بین شاخص‌های فیزیولوژیک در جمعیت TO در محیط رطوبتی نرمال (پایین قطر) و تنش خشکی (بالای قطر)

۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	صفات
عملکرد دانه	کاتالاز	آسکوربات	پراکسیداز	فلورسانس کلروفیل	کارتنوئید	نسبت کلروفیل a/b	کلروفیل a+b	کلروفیل b	کلروفیل a	مالون دی‌آلدئید	غلظت پرولین	محتوای نسبی آب برگ
۰/۰۵	۰/۱۹	۰/۱۹	-۰/۰۳	-۰/۳۵	۰/۲۹	-۰/۳۵	-۰/۳۹	-۰/۲۶	۰/۲۰	۰/۲۴	۱	۱
۰/۱۵	۰/۲۸	-۰/۰۲	-۰/۱۸	۰/۱۱	۰/۳۲	۰/۱۱	-۰/۱۵	۰/۲۲	۰/۳۹	۱	-۰/۱۱	۲
۰/۵۷**	۰/۴۳	-۰/۳۲	۰/۰۷	۰/۲۰	-۰/۳۱	۰/۲۰	۰/۳۴	۰/۰۸	۱	۰/۲۴	۰/۱۳	۳
-۰/۰۶	۰/۲۷	۰/۲۳	-۰/۰۷	۰/۹۳**	۰/۲۳	۰/۹۳**	۰/۴۱	۱	۰/۱۶	-۰/۱۲	۰/۱۴	۴
۰/۱۷	-۰/۱۰	-۰/۱۹	۰/۰۵	۰/۷۱**	-۰/۷۶**	۰/۷۱**	۱	۰/۰۲	-۰/۲۳	۰/۲۳	-۰/۰۰۴	۵
۰/۰۱	۰/۱۷	۰/۱۰	-۰/۰۳	۱/۰۰**	-۰/۱۱	۱	۰/۳۸	۰/۹۳**	۰/۰۶	-۰/۰۳	۰/۱۳	۶
-۰/۲۰	۰/۲۵	۰/۴۱	-۰/۱۱	-۰/۱۱	۱	۰/۳۸	-۰/۶۹**	۰/۶۸**	۰/۲۴	-۰/۲۵	۰/۱۵	۷
۰/۰۱	۰/۱۷	۰/۱۰	-۰/۰۳	۱	۰/۳۸	۱/۰۰**	۰/۳۸	۰/۹۳**	۰/۰۶	-۰/۰۳	۰/۱۳	۸
-۰/۰۶	-۰/۰۳	-۰/۵۱*	۱	-۰/۱۹	-۰/۱۶	-۰/۱۹	-۰/۰۶	-۰/۱۸	-۰/۳۷	-۰/۱۷	-۰/۵۷*	۹
-۰/۳۰	۰/۱۸	۱	۰/۳۵	-۰/۲۴	-۰/۰۰۷	-۰/۲۴	-۰/۲۷	-۰/۱۵	۰/۳۲	۰/۲۰	-۰/۱۱	۱۰
۰/۱۰	۱	-۰/۳۳	-۰/۱۸	۰/۲۵	۰/۱۱	-۰/۰۵	۰/۱۱	۰/۲۲	۰/۰۱	-۰/۳۴	-۰/۱۸	۱۱
۱	-۰/۱۲	-۰/۰۵	۰/۱۵	۰/۲۸	۰/۱۷	۰/۲۸	۰/۰۳	۰/۲۹	-۰/۰۵	-۰/۲۲	۰/۱۲	۱۲

* و ** به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۵ و ۱ درصد است و اعداد بدون ستاره بیانگر عدم معنی‌داری است.

شرایط تنش نشان دادند (جدول ۵). در جمعیت PO و در شرایط نرمال، برای شاخص محتوای نسبی آب برگ، نسبت کلروفیل a/b و آسکوربات پراکسیداز نتایج حاصل شده از لاین‌های انتخاب شده براساس عملکرد بالا و برترین لاین‌ها براساس شاخص STI بیشترین میانگین را نسبت به نتایج حاصل شده از روش انتخاب پست‌ترین لاین‌ها براساس عملکرد دانه نشان دادند. در شرایط تنش خشکی نتایج حاصل از انتخاب برترین لاین‌ها براساس عملکرد دانه محتوای نسبی آب برگ بیشتری نسبت به نتایج حاصل از روش دیگر داشتند. نتایج حاصل از انتخاب برتر و روش شاخص STI فلورسانس کلروفیل بیشتری نسبت به نتایج حاصل از انتخاب لاین‌های با عملکرد دانه کمتر در شرایط تنش خشکی نشان دادند. نتایج حاصل از انتخاب پست‌ترین لاین‌ها عملکرد آزیمی بهتر مانند آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به دو روش دیگر نشان داد. (جدول ۶). در جمعیت TO، در شرایط نرمال نتایج حاصل شده از انتخاب برترین لاین‌ها و روش شاخص STI بیشترین میانگین را برای شاخص

روش‌های مختلف انتخاب در هر کدام از جمعیت‌های TP، PO و TO و در هر دو شرایط رطوبتی در جدول ۸، ۹ و ۱۰ نشان داده شده است. در جمعیت TP در شرایط نرمال، نتایج حاصل شده از انتخاب برترین لاین‌ها براساس عملکرد دانه غلظت پرولین، کلروفیل b، کلروفیل a+b و کارتنوئید بیشتری نشان دادند. نتایج حاصل شده از انتخاب برترین لاین‌ها براساس شاخص STI آسکوربات پراکسیداز بیشتری نسبت به دو روش انتخابی دیگر نشان دادند. نتایج حاصل شده از انتخاب پست‌ترین لاین‌ها محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل a و نسبت کلروفیل a/b بیشتری نسبت به دو روش دیگر نشان دادند. در همین جمعیت در شرایط تنش خشکی، نتایج حاصل شده از انتخاب برترین لاین‌ها براساس برترین لاین‌ها کلروفیل a+b و کارتنوئید بیشتری نسبت به دو گروه دیگر نشان دادند. نتایج حاصل شده از انتخاب برترین لاین‌ها براساس برترین لاین‌ها محتوای نسبی آب برگ، غلظت پرولین بالاترین نسبت به دو روش دیگر نشان داد. نتایج حاصل شده از روش انتخاب برترین لاین‌ها و شاخص STI کلروفیل a و عملکرد دانه بیشتری در

جدول ۸- مقایسه میانگین نتاج حاصل شده از سه روش مختلف انتخاب در نسل F3 و ارزیابی در نسل F4 برای عملکرد دانه و شاخص‌های فیزیولوژیک در جمعیت TP در شرایط نرمال رطوبتی و تنش خشکی

روش انتخاب	محتوای نسبی آب برگ (%)		غلظت پرولین (میکرومول بر گرم برگ تازه)		مالون دی‌آلدئید (نانومول بر کیلوگرم برگ)		کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		نسبت کلروفیل a/b	
	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش		
برترین‌های	۶۳/۹۰ ^b	۴۲/۵۰ ^c	۱۷/۵۸ ^a	۲۷/۳۵ ^b	۴/۸۴ ^a	۷/۱۲ ^b	۰/۶۵ ^b	۰/۴۵ ^a	۰/۳۱ ^a	۰/۱۶ ^a	۲/۱۴ ^b	۳/۲۰ ^a
کمترین عملکرد	۶۹/۴۳ ^a	۴۲/۹۸ ^b	۱۳/۹۰ ^b	۲۶/۸۷ ^b	۵/۶۲ ^a	۸/۰۴ ^a	۰/۶۷ ^a	۰/۳۵ ^b	۰/۲۵ ^c	۰/۱۱ ^b	۲/۷۵ ^a	۳/۵۱ ^a
براساس شاخص	۶۴/۷۶ ^b	۴۵/۶۱ ^a	۱۶/۸۲ ^{ab}	۳۰/۰۲ ^a	۴/۹۰ ^a	۶/۹۴ ^b	۰/۶۲ ^c	۰/۴۴ ^a	۰/۲۸ ^b	۰/۱۱ ^b	۲/۴۱ ^{ab}	۳/۹۶ ^a

عملکرد دانه (گرم بر متر مربع)	کلروفیل a+b (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		فلورسانس کلروفیل	آسکوربات بر اکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)		کاتالاز
	نرمال	تنش		نرمال	تنش	
برترین‌های	۰/۹۷ ^a	۰/۶۱ ^a	۰/۷۴ ^a	۰/۵۹ ^a	۱/۲۷ ^b	۲/۱۶ ^a
کمترین عملکرد	۰/۹۲ ^b	۰/۴۶ ^c	۰/۷۵ ^a	۰/۶۰ ^a	۱/۱۹ ^c	۲/۳۳ ^a
بر اساس شاخص	۰/۹۰ ^b	۰/۵۶ ^b	۰/۷۴ ^a	۰/۵۸ ^a	۱/۴۳ ^a	۲/۲۸ ^a

در هر ستون و برای هر صفت و هر محیط رطوبتی میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۹- مقایسه میانگین نتاج حاصل شده از سه روش مختلف انتخاب در نسل F3 و ارزیابی در نسل F4 برای عملکرد دانه و شاخص‌های فیزیولوژیک در جمعیت PO در شرایط نرمال رطوبتی و تنش خشکی

روش انتخاب	محتوای نسبی آب برگ (%)		غلظت پرولین (میکرومول بر گرم برگ تازه)		مالون دی‌آلدئید (نانومول بر کیلوگرم برگ)		کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		نسبت کلروفیل a/b	
	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش		
برترین‌های	۶۵/۹۳ ^a	۴۵/۴۴ ^a	۱۸/۷۲ ^a	۲۷/۰۷ ^a	۶/۰۷ ^a	۸/۰۷ ^a	۰/۷۲ ^a	۰/۴۸ ^a	۰/۲۸ ^b	۰/۱۳ ^a	۲/۵۵ ^a	۳/۸۲ ^a
کمترین عملکرد	۶۴/۳۰ ^b	۴۱/۴۰ ^b	۲۲/۵۸ ^a	۳۰/۶۱ ^a	۶/۲۰ ^a	۸/۳۲ ^a	۰/۷۱ ^a	۰/۴۶ ^a	۰/۳۵ ^a	۰/۱۳ ^a	۲/۱۶ ^b	۳/۵۰ ^a
براساس شاخص	۶۶/۶۷ ^a	۴۲/۷۱ ^b	۱۹/۶۳ ^a	۲۷/۵۸ ^a	۵/۸۳ ^a	۸/۴۶ ^a	۰/۷۰ ^a	۰/۵۰ ^a	۰/۲۸ ^b	۰/۱۳ ^a	۲/۵۳ ^a	۳/۷۳ ^a

عملکرد دانه (گرم بر متر مربع)	کلروفیل a+b (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		فلورسانس کلروفیل	آسکوربات بر اکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)		کاتالاز
	نرمال	تنش		نرمال	تنش	
برترین‌های	۱/۰۱ ^b	۰/۶۱ ^a	۰/۷۸ ^a	۰/۶۳ ^a	۱/۴۹ ^a	۱/۶۹ ^b
کمترین عملکرد	۱/۰۶ ^a	۰/۶۰ ^a	۰/۷۷ ^a	۰/۵۸ ^b	۲/۲۷ ^a	۲/۹۷ ^b
بر اساس شاخص	۰/۹۸ ^b	۰/۶۴ ^a	۰/۷۷ ^a	۰/۶۱ ^a	۱/۵۶ ^a	۱/۶۳ ^b

در هر ستون و برای هر صفت و هر محیط رطوبتی میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۱۰- مقایسه میانگین نتایج حاصل شده از سه روش مختلف انتخاب در نسل F3 و ارزیابی در نسل F4 برای عملکرد دانه و شاخص‌های فیزیولوژیک در جمعیت TO در شرایط نرمال رطوبتی و تنش خشکی

روش انتخاب	محتوای نسبی آب برگ (%)		غلظت پرولین (میکرومول بر گرم برگ تازه)		مالون دی‌آلدئید (نانومول بر کیلوگرم برگ)		کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		نسبت کلروفیل a/b	
	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش		
برترین‌های	۶۳/۷۱ ^a	۴۳/۶۳ ^b	۱۴/۱۷ ^a	۲۶/۸۳ ^b	۶/۰۸ ^a	۶/۲۳ ^b	۰/۶۵ ^a	۰/۴۴ ^b	۰/۲۳ ^a	۰/۱۳ ^b	۲/۹۰ ^b	۳/۴۶ ^a
کمترین عملکرد	۵۹/۹۵ ^b	۴۶/۰۸ ^a	۱۳/۲۵ ^a	۳۰/۳۳ ^a	۵/۰۸ ^b	۷/۳۰ ^a	۰/۶۷ ^a	۰/۵۰ ^a	۰/۱۹ ^b	۰/۱۵ ^a	۳/۶۵ ^a	۳/۵۱ ^a
براساس	۶۳/۷۱ ^a	۴۳/۶۳ ^b	۱۴/۱۷ ^a	۲۶/۸۳ ^b	۶/۰۸ ^a	۶/۲۳ ^b	۰/۶۵ ^a	۰/۴۴ ^b	۰/۲۳ ^a	۰/۱۳ ^b	۲/۹۰ ^b	۳/۴۶ ^a
عملکرد دانه (گرم بر متر مربع)	کلروفیل a+b (میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)		کارتنوئید		فلورسانس کلروفیل		آسکوربات پراکسیداز		کاتالاز		عملکرد دانه (گرم بر متر مربع)	
	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش		
برترین‌های	۰/۸۹ ^a	۰/۵۷ ^b	۰/۴۴ ^a	۰/۲۸ ^b	۰/۷۶ ^a	۰/۶۰ ^a	۱/۴۹ ^b	۱/۸۳ ^a	۰/۳۳ ^b	۰/۵۲ ^a	۲۶۲/۰۶ ^a	۱۱۶/۳۱ ^a
کمترین عملکرد	۰/۸۶ ^a	۰/۶۵ ^a	۰/۴۳ ^a	۰/۳۳ ^a	۰/۷۷ ^a	۰/۵۹ ^a	۱/۷۳ ^a	۲/۰۰ ^a	۰/۴۲ ^a	۰/۵۵ ^a	۲۱۵/۸۰ ^b	۱۳۵/۶۲ ^a
بر اساس	۰/۸۹ ^a	۰/۵۷ ^b	۰/۴۴ ^a	۰/۲۸ ^b	۰/۷۶ ^a	۰/۶۰ ^a	۱/۴۹ ^b	۱/۸۳ ^a	۰/۳۳ ^b	۰/۵۲ ^a	۲۶۲/۰۶ ^a	۱۱۶/۳۱ ^a

در هر ستون و برای هر صفت و هر محیط رطوبتی میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

برخی از این شاخص‌ها نیز افزایش یافتند. این نتیجه بیانگر این است که در این جمعیت با انتخاب برای عملکرد بالا در نسل قبل تحمل گیاه به تنش خشکی در نسل بعد افزایش می‌یابد. در جمعیت TO شاخص‌های فیزیولوژیک به انتخاب برای عملکرد پایین واکنش نشان دادند به طوری که در ژنوتیپ‌هایی با عملکرد پایین میانگین کمتری نشان دادند، که بیانگر این است که در این جمعیت با انتخاب برای عملکرد بالا در نسل قبل تحمل گیاه به تنش خشکی در نسل بعد کاهش می‌یابد. در جمعیت PO انتخاب برای عملکرد دانه تأثیر بسزایی بر شاخص‌های فیزیولوژیک نشان نداد. نتایج مطالعه حاضر بیانگر این است که کارایی انتخاب به نوع جمعیت بسیار وابسته است که مطابق با نتایج Sio-Se Mardeh و همکاران (۲۰۰۶) است. همچنین انتخاب برای عملکرد دانه (هم عملکرد بالا و هم پایین) فقط در جمعیت PO در محیط تنش بر روی ظرفیت آنزیمی (از لحاظ آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز) تأثیر گذاشت. این موضوع نشان‌دهنده پیچیدگی تحمل به

محتوای نسبی آب برگ، غلظت مالون دی‌آلدئید، غلظت کلروفیل b و عملکرد دانه داشتند. در شرایط تنش خشکی نتایج حاصل از انتخاب پست‌ترین لاین‌ها براساس عملکرد دانه میانگین بیشتری برای شاخص محتوای نسبی آب برگ، محتوای پرولین، غلظت مالون دی‌آلدئید، غلظت کلروفیل a, b و کل و کارتنوئید نسبت به دو گروه دیگر نشان داد. نتایج حاصل از انتخاب برترین‌ها لاین‌ها براساس عملکرد دانه و برترین لاین‌ها براساس شاخص STI برای اکثر پارامترها در شرایط تنش خشکی افزایشی در میانگین نداشتند (جدول ۷).

نتایج نشان می‌دهد که نتایج حاصل از گروه‌های انتخابی براساس بالا یا پایین بودن عملکرد، در جمعیت‌های متفاوت (TP، PO و TO) واکنش متفاوتی از لحاظ شاخص‌های فیزیولوژیک داشتند. بیشترین واکنش به انتخاب برای عملکرد دانه در دو جمعیت TP و TO مشاهده شد. به طوری که در جمعیت TP شاخص‌های فیزیولوژیک به انتخاب برای عملکرد بیشتر واکنش دادند و همزمان با انتخاب برای عملکرد بالا

فلورسانس کلروفیل همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد و این نشان می‌دهد لاین‌های حاوی مقدار بیشتر کلروفیل b، کارتنوئید و فلورسانس کلروفیل عملکرد بهتری در شرایط تنش داشته باشند. انتخاب برای عملکرد دانه به‌منظور بررسی اثر آن بر شاخص‌های فیزیولوژیک نشان داد که جمعیت‌های مورد بررسی عکس‌العمل متفاوتی به این انتخاب نشان دادند. به‌طوری‌که جمعیت TP در اکثر موارد واکنش مثبت و جمعیت TO اغلب واکنش منفی نشان داد. به این منظور که در جمعیت TP انتخاب برترین گروه از نظر عملکرد منجر به افزایش صفات فیزیولوژیک در شرایط تنش خشکی شد که نشان‌دهنده واکنش گیاه برای تحمل به تنش است. گروه کمترین عملکرد دانه در جمعیت TO افزایش بیشتری در صفات فیزیولوژیک نشان داد که این امر انتخاب همزمان برای عملکرد دانه و صفات مرتبط با تحمل به خشکی را دشوار می‌کند. این نتایج اهمیت نوع جمعیت برای برنامه‌های انتخاب را بیش از پیش تأیید کرد. به‌صورت کلی این مطالعه نشان داد که ایتروگرسینون ژنی از طریق تلاقی بین گونه زراعی و خویشاوندان وحشی گلرنگ (به‌خصوص والد *C. palaestinus*) می‌تواند برای گسترش تنوع ژنتیکی برای تحمل به خشکی و شاخص‌های فیزیولوژیک مرتبط به آن استفاده شود. جمعیت‌های حاصل از تلاقی بین‌گونه‌ای تنوع گستره فنوتیپی را نشان دادند که آن‌ها را منبع ژنتیکی خوبی برای ایجاد ارقام جدید گلرنگ می‌کند.

تنش خشکی از طریق شاخص‌های آنزیمی و فیزیولوژیک است و نشان می‌دهد انتخاب همزمان عملکرد دانه و ظرفیت آنزیمی بالا کار دشواری است.

نتیجه‌گیری

گونه‌های وحشی سازگاری بسیار بالایی به تنش‌های محیطی از جمله خشکی دارند. در این مطالعه تنوع زیادی در گونه‌های والدینی و لاین‌های F4 حاصل از تلاقی آن‌ها در خصوص شاخص‌های فیزیولوژیک مشاهده شد. افزایش معنی‌دار صفت مالون دی‌آلدئید و محتوای پرولین در دو گونه‌ی *C. tinctorius* و *C. palaestinus* و محتوای نسبی آب برگ بالا در گونه‌ی *C. oxyacanthus* به‌عنوان پاسخی به تنش در این گونه‌ها قلمداد شد. این نتایج نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف رفتار متفاوتی برای کاهش اثر تنش خشکی نشان می‌دهند و بنابراین تلاقی بین این گونه‌ها ممکن است منجر به ایجاد نتایج متحمل شود. تنش خشکی منجر به افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز و محتوای پرولین شد، ولی صفات کلروفیل‌های a و b و محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت. این می‌تواند نشان دهد که افزایش در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثرات مخرب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش و تحمل به تنش را بهبود دهد. لذا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را می‌توان به‌عنوان شاخصی برای انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در نظر گرفت. علاوه بر این، نتایج همبستگی‌ها مطالعه در جمعیت TP عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی با پارامترهای کلروفیل b، کارتنوئید و

منابع

- ابوالحسنی، خ. و سعیدی، ق. (۱۳۸۵) ارزیابی تحمل به خشکی لاین‌های گلرنگ براساس شاخص‌های تحمل حساسیت به تنش رطوبتی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۳: ۴۱۸-۴۰۷.
- خواجه‌پور، م. ر. (۱۳۸۴) تولید نباتات صنعتی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.
- زینلی، ا. (۱۳۷۸) گلرنگ: شناخت - تولید - مصرف. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان.
- شیراوند، ر. و مجیدی، م. م. (۱۳۹۲) تحلیل ارتباط ویژگی‌های مختلف در ژنوتیپ‌های ۵ گونه جنس *Carthamus* تحت شرایط عادی و کم آبی. مجله تولید فرآوری محصولات زراعی و باغی ایران ۸: ۱۶۳-۱۴۹.

- Abbasi, A. R., Sarvestani, R., Mohammadi, B. and Bagheri, A. (2014) Drought stress-induced changes at physiological and biochemical levels in some common vetch (*Vicia sativa* L.) genotypes. *Journal of Agricultural Science and Technology* 16: 505-516.
- Aebi, H. E. (1983) Catalase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. (ed. Bergmeyer, H. U.) Pp. 273-286. Verlag Chemie, Weinheim, FL.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D. and Smith, M. (1998) *Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Requirements*. Irrigation and Drainage Paper, Rome, Italy.
- Amini, H., Arzani, A. and Karami, M. (2014) Effect of water deficiency on seed quality and physiological traits of different safflower genotypes. *Turkish Journal of Biology* 38: 271-282.
- Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C. and Lie, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research* 6: 2026-2032.
- Aple, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-399.
- Azizpour, K., Shakiba, M. R., Sima, N. A. K. K., Alyari, H., Mogaddam, M., Esfandiari, E. and Pessarakli, M. (2010) Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of Plant Nutrition* 33: 859-873.
- Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, R. D. (1973) Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and Soil* 39: 205-208.
- Bisen, M. S., Singh, S. P. and Rao, S. K. (1985) Effectiveness of selection methods in chickpea *Cicer arietinum* under different environments. *Theoretical and Applied Genetics* 70: 661-666.
- Blum, A. (2011) *Plant breeding for water-limited environments*, Springer, New York.
- Chapman, M. A. and Burke, J. M. (2007) DNA sequence diversity and the origin of cultivated safflower (*Carthamus tinctorius* L., Asteraceae). *BMC Plant Biology* 7: 1-8.
- Chigeza, G., Mashingaidze, K. and Shanahan, P. (2014) Combining ability, indirect and correlated response to selection for oil yield in sunflower (*Helianthus annuus*) under contrasting moisture environments. *Field Crops Research* 167: 40-50.
- Clark, J. M. R., Depauw, M. and Ownley-Smith, T. F. (1992) Evaluation of methods for quantification of drought tolerance in wheat. *Crop Science* 32: 723-728.
- Ebrahimi, F., Majidi, M. M., Arzani, A. and Mohammadi-Nejad, G. (2016) Oil and seed yield stability in a worldwide collection of safflower under arid environments of Iran. *Euphytica* 212: 131-144.
- Ebrahimiyan, M., Majidi, M. M., Mirlohi, A. and Noroozi, A. (2013) Physiological traits related to drought tolerance in tall fescue. *Euphytica* 190: 401-414.
- Ebrahimiyan, M., Majidi, M. M., Mirlohi, A. and Gheysari, M. (2012) Drought tolerance indices in a tall fescue population and its polycross progenies. *Crop and Pasture Science* 63: 360-369.
- Espanani, S., Majidi, M. M., Saeidi, G., Alaei, H. and Rezaei, V. (2019) Wide hybridization and introgression breeding in safflower: Effectiveness of different selection methods. *Plant Breeding* 138: 846-861.
- Ekin, Z. (2005) Resurgence of safflower (*Carthamus tinctorius*) utilization: A global view. *Agronomy Journal* 4: 83-87.
- El-Tayeb, M. A. (2006) Differential responses of pigments, lipid per-oxidation, organic solutes, catalase and peroxidase activity in the leaves of two *Vicia faba* L. cultivars to drought. *International Journal of Agriculture and Biology* 8: 116-112.
- Fernandez, G. C. J. (1992) Effective selection criteria for assessing stress tolerance. In: *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops in Temperature and Water Stress*, Publication, Tainan, Taiwan.
- Gao, J. F. (2006) *Technique of Phytophysiology Experiments*. 1st Ed. Higher Education Press, Shaanxi, China.
- Garcia-Valenzuela, X., Garcia-Moya, E., Rascon-Cruz, Q., Herrera-Estrella, L. and Aguado-Santacruz, G. A. (2005) Chlorophyll accumulation is enhanced by osmotic stress in graminaceous chlorophyll cells. *Plant Physiology* 162: 650-661.
- Hajjar, R. and Hodgkin, T. (2007) The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. *Euphytica* 156: 1-13.
- Hojati, M., Modarres-Sanavy, S. A. M., Karimi, M. and Ghanati, F. (2011) Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 105-112.
- Jabbari Orange, M. and Ebadi, A. (2012) Responses of phenological and physiological stages of spring safflower to complementary irrigation. *African Journal of Biotechnology* 11: 2465-2471.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S. and Sarin, N. B. (2001) Ameliorative effects of proline on salt stress induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogea* L.). *Plant Cell Reports* 20: 463-468.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R. and Panneerslvam, R. (2009) Drought stress plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 100-105.

- Jangir, R. P. and Singh, R. (1996) Effect of irrigation and nitrogen on seed yield of cumin (*Cuminum cyminum*). Indian Journal of Agronomy 41: 140-143.
- Johnson, G. N., Scholes, J. D., Horton, P. and Young, A. J. (1993) Relationships between carotenoid composition and growth habit in British plant species. Plant, Cell and Environment 16: 681-686.
- Jiang, Y. and Huang, B. (2001) Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation contribution. Crop Science 41: 436-442.
- Kar, G., Kumar, A. and Martha, M. (2007) Water use efficiency and crop coefficients of dry season oilseed crops. Agriculture Water Management 87: 73-82.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592.
- Madhava, K. V. and Sresty, T. V. S. (2000) Antioxidative parameters in the seed-lings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. Plant Science 157: 113-128.
- Majidi, M. M., Tavakoli, V., Mirlohi, A. and Sabzalian, M. R. (2011) Wild safflower species (*Carthamus oxyacanthus* Bieb.): A possible source of drought tolerance for arid environments. Australian Journal of Crop Science 5: 1055-1063
- Medrano, H., Escalona, J. M., Bota, J., Gulias, J. and Flexas, J. (2002) Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter. Annals of Botany 89: 895-905.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology 22: 867-880.
- Ozturk, L. and Demir, Y. (2002) In vivo and in vitro protective role of proline. Plant Growth Regulation 38: 259-264.
- Pasban Eslam, B. (2011) Evaluation of physiological indices for improving water deficit tolerance in spring safflower. Journal of Agriculture Science and Technology 13: 327-338.
- Pearl, S. A. and Burke, J. M. (2014) Genetic diversity in *Carthamus tinctorius* (Asteraceae; safflower), An underutilized oilseed crop. American Journal of Botany 101: 1640-1650.
- Rashed, A. N., Afifi, F. U., Shaedah, M. and Taha, M. O. (2004) Investigation of the active constituents of *Portulaca oleraceae* L. (Portulacaceae) growing in Jordan. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences 17: 37-45.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology 161: 1189-1202.
- Reynolds, M. P., Trethowan, R. M. van Ginkel, M. and Rajaram, S. (2001) Application of physiology in wheat breeding. In: Application of Physiology in Wheat Breeding. (ed. Reynolds, M. P., Ortiz-Monasterio, J. I. and McNab, A.) Pp. 2-10. CIMMYT, Mexico, DF.
- Richards, R. A. (1996) Defining selection criteria to improve yield under drought. Plant Growth Regulation 20: 157-166.
- Sairam, R. K., Shukla, D. S. and Saxena, D. S. (1997) Stress induced injury and antioxidant enzymes in relation to drought tolerance in wheat genotypes. Biologia Plantarum 40: 357-364.
- Sarutayophat, T. and Nualsri, Ch. (2010) The efficiency of pedigree and single seed descent selections for yield improvement at generation 4 (F4) of two yardlong bean populations. Kasetsart Journal (National Science) 44: 343-352.
- Singh, A. K. and Dubey, R. S. (1995) Changes in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl. Photosynthetica 31: 489-499.
- Simane, B. P., Struik, C., Nachit, M. M. and Peacock, J. M. (1993) Ontogenic analysis of yield components and yield stability of durum wheat in water-limited environments. Euphytica 71: 211-219.
- Sio-Se Mardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K. and Mohammadi, V. (2006) Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions. Field Crops Research 98: 222-229.
- Tian, S., Mao, X., Zhang, H., Chen, S., Zhai, C., Yang, S. and Jing, R. (2013) Cloning and characterization of TaSnRK2.3, a novel SnRK2 gene in common wheat. Journal of Experimental Botany 64: 2063-2080.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. (2005) Differential response of lipid per-oxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science 168: 223-231.
- Wilson, A., Punginelli, C., Gall, A., Bonetti, C., Alexandre, M., Routaboul, J. M., Cheryl Kerfeld, A., Grondelle, R., Robert, B., Kennis, J. T. M. and Kirilovsky, D. (2008) A photoactive carotenoid protein acting as light intensity sensor. In Proceedings of the National Academy of Sciences 105: 12075-12080.
- Yang, J., Zhang, J., Wang, Z., Zhu, Q. and Liu, L. (2001) Wheat: Water deficit-induced senescence and its relationship to the remobilization of pre-stored carbon in wheat during grain filling. Agronomy Journal 93: 196-206.

Physiological changes in flowering stage due to drought stress in F4 lines derived from inter-specific hybridization of safflower

Soheila Espanani, Mohammad Mahdi Majidi, Hossein Alaei, Ghodrattollah Saeidi, Fezeh Farhadi

Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-8311, Iran

(Received: 25/10/2019, Accepted: 05/08/2020)

Abstract

Wild relatives of safflower have high potential of hybridization with cultivated safflower and possesses a high tolerance to biotic and abiotic stresses, especially drought stress. This study was conducted to investigate the effect of drought stress on the physiological traits and their relationship with seed yield in F4 lines derived from interspecific hybridization of safflower. For this purpose, 12, 13 and 14 lines derived from three crosses of *Carthamus tinctorius* × *Carthamus palaestinus* (TP), *Carthamus tinctorius* × *Carthamus oxyacanthus* (TO) and *Carthamus palaestinus* × *Carthamus oxyacanthus* (PO) with 3 parental species (total 45 lines) were evaluated separately under both normal irrigation and drought conditions. In the first study, F4 lines were evaluated for understanding the physiological mechanisms of drought tolerance, and in the second study, the effect of selection for seed yield in F3 on these traits in F4 was investigated. The results of the first study showed that TP crosses had higher seed yield compared with the other two crosses under normal irrigation condition, but there was no significant difference among the crosses under drought stress condition. The parental species showed significant differences for relative leaf water content, proline content, malondialdehyde, chlorophyll a and chlorophyll fluorescence. However, interspecific populations showed no significant differences for most of these traits under drought stress condition. These results may indicate the transfer of resistance genes from wild species to the cultivated safflower. The results of the second study showed that TP, PO and TO populations were different in terms of physiological traits, and it was revealed that selection efficiency was dependent on the type of the studied population. Selection in the TP population, which was derived from crossing between the cultivated species and wild species of *C. palaestinus*, showed higher efficiency due to selection compared to the TO and PO populations in which *C. oxyacanthus* was one of their parents. Therefore, with considering the physiological traits and seed yield, TP population was recognized as the best population for breeding programs.

Keywords: Selection, Physiological indices, Safflower, Water deficit, Wild relative.

Corresponding author, Email: majidi@iut.ac.ir