

## بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های منتخب جو وحشی (*Hordeum vulgare ssp. spontaneum*) در سطوح مختلف تنش خشکی

معصومه گنجی<sup>۱</sup>، اسفندیار فرهمندفر<sup>۲</sup>، مریم شهبازی<sup>۳\*</sup> و مهدی زهراوی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت، اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران،

<sup>۲</sup> اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران

<sup>۳</sup> بخش تحقیقات فیزیولوژی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی،

کرج، ایران، <sup>۴</sup> موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۵/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۳/۲۰)

### چکیده:

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده است که رشد و نمو گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. جو وحشی اسپانتانوم (*Hordeum vulgare ssp. spontaneum*) والد جو زراعی است و دارای پتانسیل بالایی از لحاظ تحمل به تنش‌های محیطی می‌باشد. این بررسی بر روی ۹ ژنوتیپ جو اسپانتانوم برای تحمل به تنش خشکی در آزمایشی بصورت کرت‌های خرد شده براساس طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه در سال ۹۱-۱۳۹۰، تحت شلتر انجام شد. کرت اصلی شامل سه تیمار آبیاری عبارت از بدون تنش، قطع آبیاری از مرحله گلدهی و تنش-خشکی بصورت عدم آبیاری و کرت فرعی بود نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر عملکرد دانه، بیوماس، محتوای نسبی آب برگ، تنظیم‌اسمزی، هدایت روزنه‌ای، میزان کلروفیل کل، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئین، مالون دی‌آلدئید، قند محلول کل و پرولین معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود و واکنش ژنوتیپ‌ها به خشکی از نظر صفات محتوای نسبی آب برگ، تنظیم‌اسمزی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئین، مالون دی‌آلدئید، میزان کلروفیل کل و پرولین معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود. نتایج بدست آمده از تجزیه به مولفه‌های اصلی براساس مجموع صفات مورد ارزیابی در شرایط تنش خشکی، ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در چهار گروه قرار داد. گروه اول و دوم شامل ژنوتیپ‌های ۶، ۴ و ۵ بود. ژنوتیپ‌های اخیر در شرایط خشکی به صورت معنی‌داری از عملکرد دانه، محتوای نسبی آب برگ، هدایت روزنه‌ای، میزان کلروفیل کل، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز بالاتر و میزان مالون دی‌آلدئید و پتانسیل اسمزی پایین‌تر (منفی‌تر) برخوردار بودند، لذا به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل شناخته شدند.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئین، تنش خشکی، جو اسپانتانوم، مالون دی‌آلدئید.

### مقدمه:

می‌دهد (Ceccarelli et al., 2008; Pennisi et al., 2010).

عوامل ایجاد شرایط تنش، تعادل طبیعی را تغییر داده و منجر به یک سری تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان می‌شوند که تأثیر منفی بر رشد و تولید آنها دارد (Guo et al., 2010) که در نهایت منجر به کاهش

تنش‌های محیطی یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده عملکرد دانه و تولید گیاهان زراعی به شمار می‌روند از میان این تنش‌های غیرزنده، تنش خشکی تا حد زیادی پیچیده‌ترین تنش در مقیاس جهانی است که رشد و نمو گیاهان را تحت تاثیر قرار

پراکسیداز، GOPX؛ گلوکاتیون اس ترانسفراز، GST) و غیرآنزیمی (آسکوربیک اسید، ASH؛ گلوکاتیون، GSH؛ ترکیبات فنولی، آلکالوئید، آمینو اسیدهای غیر پروتئینی، و آلفا توکوفرولها) می‌باشند (Gill and Tuteja, 2010). پژوهشگران نشان دادند که تحت تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گندم (Khazaie and Borzooei, 2006) و جو (Ahmed, 2013) به طور معنی‌داری افزایش یافت.

تنوع ژنتیکی در جو زراعی به علت اصلاح آن به طور فزاینده‌ای محدود شده است و این امر باعث ایجاد مشکل در سازش این گیاه با شرایط نامساعد محیطی از قبیل تنش‌های زنده مانند بیماری‌ها و تنش‌های غیرزیستی می‌شود (زهرای و همکاران، ۱۳۹۰). از آنجایی که خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی پتانسیل بالایی از لحاظ تحمل به تنش‌های زیستی و غیر زیستی را دارا هستند (Nevo and Chen, 2010) و جو اسپانتانوم (*Hordeum vulgare ssp spontaneum L.*) به عنوان جد جوزراعی است که دارای خزانه ژنی غنی از نظر مقاومت در برابر تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده بوده و از نظر تعداد کروموزوم مشابه جو زراعی می‌باشد و هیچ مانع بیولوژیکی برای تلاقی بین این دو گونه وجود ندارد (Yan et al., 2011).

هدف از این تحقیق بررسی تنوع بین ژنوتیپ‌های منتخب جو وحشی در صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دخیل در تحمل به خشکی و همچنین ارتباط بین این صفات و بیوماس و عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی به منظور دستیابی به منابع ژنتیکی جدید برای اصلاح ارقام زراعی جو می‌باشد. ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش که واکنش متفاوتی به خشکی دارند براساس گزینش مقدماتی به منظور ارزیابی تحمل به خشکی در بین ۱۰۰ نمونه جمع‌آوری شده در کشور (زهرای و همکاران، ۱۳۸۷؛ زهرای، ۱۳۸۸) انتخاب شدند.

#### مواد و روش‌ها:

این پژوهش به صورت کرت‌های خرد شده براساس طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی بانک ژن گیاهی ملی ایران واقع در کرج (۵۱ درجه و ۱۰ دقیقه طول شرقی و ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع

میزان رشد و عملکرد نهایی محصول می‌شود (Guo et al., 2010; Ashraf, 2010). خشکی نه تنها روابط آبی گیاه را از طریق کاهش محتوای آب، کاهش فشار آماس و کاهش پتانسیل آبی کل تحت تاثیر قرار می‌دهد، بلکه موجب بسته شدن روزنه‌ها، کاهش محتوی نسبی آب برگ، محدودیت تبادل گازی، کاهش تعرق و کاهش جذب کربن (فتوستتوز) نیز می‌شود (Guo et al., 2010). در طی بروز تنش خشکی گیاهان با ذخیره ترکیبات آلی کوچک مولکولی به عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی همانند اسیدهای آمینه، قندها و تجمع برخی از یون‌های معدنی در واکوئل سعی در حفظ تعادل اسمزی و مقابله با تنش دارند (Ashraf, 2009; Chimenti et al., 2006). به عنوان پیامد تجمع این مواد، پتانسیل اسمزی سلول کاهش می‌یابد و موجب جذب آب و نگهداری فشار تورژسانس سلول می‌شود (ابوالحسینی زراعتکار و همکاران، ۱۳۸۹). کربوهیدرات‌های محلول و سایر مواد محلول سازگار (مانند پرولین) به عنوان اسمولیت برای حفظ فشار ترگر سلول، حفظ یکپارچگی غشا و جلوگیری از دناتوره شدن پروتئین‌ها استفاده می‌شود (Bartels and Sunkar, 2005; Kaplan and Guy, 2004; et al., 2006).

از سوی دیگر خشکی مانند سایر تنش‌های غیرزیستی، موجب تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن Reactive Oxygen Species (ROS) در گیاهان می‌شود. ROS می‌تواند به غشای سلولی، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها آسیب وارد نماید (Ashraf, 2009; Gill and Tuteja, 2010) و باعث عدم تعادل متابولیک در گیاهان شود. ROS از رادیکال‌های آزاد و مولکول‌های غیر رادیکال (پراکسید هیدروژن،  $H_2O_2$  و اکسیژن یگانه،  $O_2$ ) تشکیل شده است (Munne-Bosch and Penuelas, 2003; Gill and Tuteja, 2010). گیاهان جهت مقابله با تنش اکسایشی ناشی از رادیکال‌های فعال اکسیژن دارای مکانیزم‌های ضد اکسایش آنزیمی (سوپر اکسید دیسموتاز، SOD؛ کاتالاز، CAT؛ آسکوربات پراکسیداز، APX؛ گلوکاتیون ردوکتاز، GR؛ مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز، MDHAR؛ دهیدروآسکوربات ردوکتاز، DHAR؛ گلوکاتیون پراکسیداز، GPX؛ گایاکول

جدول ۱- شماره ژنوتیپ‌های جو وحشی اسپانتانوم مورد مطالعه برای ارزیابی تحمل به تنش خشکی

شماره ژنوتیپ	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
شماره بانک ژن	۲۲۰	۳۱۰	۳۱۲	۳۷۴	۴۳۴	۵۵۵	۹۷۱	۱۰۰۷	۱۰۸۹
منشا ژنوتیپ	لرستان		تهران		آذربایجان غربی	فارس	ایلام	کرمانشاه	لرستان

ثانیه ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) برای هر کرت ثبت گردید.

**تنظیم‌اسمزی:** برای محاسبه مقدار تنظیم‌اسمزی کل در گیاه از اختلاف پتانسیل‌اسمزی برگ‌های گیاهان شاهد و تحت تنش در شرایط آماس کامل استفاده گردید. بدین ترتیب که برگ پرچم هر بوته شامل گیاهان تحت تنش و گیاهان شاهد در مرحله ۲۰ روز پس از گلدهی، به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر با دمای چهار درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی غوطه‌ور گردید تا همه برگ‌ها به آماس برسند. سپس با استفاده از دستگاه اسمومتر مقدار پتانسیل‌اسمزی برگ‌ها محاسبه شد. از اختلاف مقدار پتانسیل‌اسمزی برگ تحت تنش با برگ شاهد، مقدار تنظیم‌اسمزی کل طبق رابطه ذیل بدست آمد (Blum, 1989).

$$OA_{\text{tot}} = \psi S_{c100} - \psi S_{s100} \quad \text{معادله (۲)}$$

در این معادله  $OA_{\text{tot}}$  مقدار تنظیم‌اسمزی کل،  $\psi S_{c100}$  مقدار پتانسیل‌اسمزی گیاه شاهد در آماس کامل،  $\psi S_{s100}$  مقدار پتانسیل‌اسمزی گیاه تحت تنش در صد در صد آماس می باشد.

**میزان پرولین و قند محلول کل:** اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان قند از روش تغییر یافته فنل و اسید سولفوریک (AOAC, ۱۹۹۵) استفاده شد. ابتدا بر روی مقدار ۰/۰۲ گرم ماده خشک برگ، ۱/۵ میلی‌لیتری از اتانول ۸۰٪ با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد اضافه شد و پس از تکان دادن شدید نمونه‌ها با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و پس از آن محلول شناور رویی را، به فالکون ۱۵ میلی-لیتری منتقل شد. این مرحله و شستشوی رسوب سه بار تکرار شده و سپس محلول داخل فالکون در آون ۴۵ درجه سانتیگراد به طور کامل تبخیر شد و رسوب باقیمانده برای اندازه‌گیری قند محلول کل و جزء مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه-گیری قند کل به رسوب داخل فالکون آب مقطر اضافه شد و

۱۳۲۱ متر از سطح دریا) در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ تحت شلتر اجرا شد. کرت اصلی شامل سه عامل عبارت از ۱) بدون اعمال تنش خشکی (شاهد) ۲) قطع آبیاری از مرحله گلدهی تا پایان فصل‌رشد (تنش متوسط) ۳) تنش خشکی بصورت عدم آبیاری (فقط یکبار انجام آبیاری در حد استقرار گیاه) (تنش شدید) و تعداد ۹ (ژنوتیپ) جو وحشی اسپانتانوم (جدول ۱) به عنوان عامل فرعی منظور شد. هر نمونه ژنوتیپی بر روی سه ردیف کشت شد. هر ردیف به طول دو متر و فاصله ۶۰ سانتی‌متر بین ردیف‌ها در نظر گرفته شد.

**نمونه برداری‌ها و اندازه‌گیری‌ها:** نمونه برداری‌ها جهت بررسی صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی در آزمایش‌های شاهد، قطع آبیاری از گلدهی در ۲۰ روز پس از گلدهی زمانی که در صد رطوبت خاک در شرایط شاهد ۱۷/۱۹ درصد، در تنش متوسط ۸/۰۸ در تنش شدید به ۶/۸۲ رسید صورت گرفت.

**عملکرد دانه و بیوماس:** در زمان برداشت از سطح کل کرت بصورت کف بر از سطح خاک، از هر یک از واحدهای آزمایشی شد و پس از خشک شدن کامل و توزین گیاهان برداشت شده، بیوماس و عملکرد دانه هر کرت (۱/۲ متر مربع) بدست آمد.

**محتوای نسبی آب برگ (RWC):** محتوای نسبی آب برگ پرچم، با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد (Pask et al., 2012).

$$\%RWC = (FW - DW / TW - DW) * 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

وزن نمونه‌های خشک (DW)، وزن آماسی (TW)، وزن تر برگ (FW)

**هدایت روزنه‌ای:** به منظور ارزیابی میزان هدایت روزنه‌ای، از هر کرت ۱۰ بوته به صورت تصادفی انتخاب و میزان هدایت روزنه‌ای برگ پرچم در ساعت ۹-۱۰ صبح توسط دستگاه POROMETER مدل AP4- DELTA- T DEVICES اندازه‌گیری و میانگین اعداد بر اساس میلی‌مول بر مترمربع در

گردید. همچنین پس از استاندارد کردن داده‌های مربوط به صفات مورد نظر و عملکرد دانه در شرایط تنش و بدون تنش، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal Component Analysis) انجام شد و نمودار بای‌پلات آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (ver 9.1) ترسیم گردید.

### نتایج و بحث:

**عملکرد دانه و بیوماس:** با توجه به نتایج به دست آمده اثر ژنوتیپ و تنش برای صفت و بیوماس و همچنین واکنش ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف خشکی اعمال شده معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود و همچنین اثر تنش و ژنوتیپ نیز بر عملکرد دانه معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده). با افزایش سطح تنش خشکی بیوماس در ژنوتیپ‌ها کاهش پیدا کرد (جدول ۲) که بیشترین بیوماس در شرایط تنش شدید مربوط به ژنوتیپ ۴ به میزان ۴۸۱ گرم و کمترین بیوماس در شرایط تنش شدید مربوط به ژنوتیپ ۹ به میزان ۲۸۲ گرم بود (جدول ۳). در بررسی صفت عملکرد دانه ژنوتیپ ۶، ۵ و ۴ دارای بیشترین عملکرد بودند (جدول ۳). محققین بسیاری کاهش عملکرد دانه گندم و جو را در شرایط تنش خشکی گزارش کرده اند (Sio-Se Mardeh, 2006). تولید ماده خشک در گیاهان یکی از مهمترین عوامل تاثیر گذار روی عملکرد می باشد. محققان زیادی پیشرفت عملکرد را در طی سال‌های اخیر به دلیل افزایش ماده خشک گیاه دانسته اند. به عبارتی دیگر ارقامی از جوکه هم دارای عملکرد بیولوژیک بالا و هم دارای شاخص برداشت بالا بودند به احتمال زیاد دارای عملکرد بالا خواهند بود (Reynolds and Tuberosa, 2008). با توجه به تاثیر خشکی بر بیوماس، احتمالاً اجزای عملکرد مورد تاثیر قرار گرفته و در نتیجه منجر به کاهش معنی‌دار عملکرد دانه شده است. نتایج بدست آمده در این آزمایش با نتایج ارزیابی‌های مقدماتی انجام شده توسط زهراوی و همکاران (۱۳۸۷) بر روی ۱۰۰ اکوتیپ جو وحشی اسپانتانوم جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور مطابقت داشت.

**محتوای نسبی آب برگ و هدایت روزنه‌ای:** اولین پاسخ

پس از حل شدن کامل آن، اسید سولفوریک ۹۸٪ و فنل ۱۰٪ به آن اضافه گردید و پس از ۴۵ دقیقه میزان قند کل توسط Spectrophotometer Infinite M200 PRO- TECAN در طول موج ۴۸۵ نانومتر بررسی گردید.

### اندازه گیری میزان کلروفیل و غلظت مالون دی‌آلدئید:

کلروفیل برگ با استفاده از استون ۸۰٪ استخراج گردید و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب را در چهار طول موج ۵۱۰ nm، ۴۸۰ nm، ۶۴۶ nm و ۶۶۳ nm قرائت گردید و میزان رنگیزه‌های موجود به روش Arnon (۱۹۴۹) محاسبه شد.

به منظور اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از معادله (۳) محاسبه گردید (Heath and Packer, 1969):

معادله (۳)  $MDA(nmol/ml) = [(A_{532} - A_{600}) / 157000] 10^6$   
در این معادله MDA مالون دی‌آلدئید بر حسب  $nmol \cdot L^{-1}$  جذب در طول موج‌های  $A_{600}$  و  $A_{532}$  می‌باشد.

### اندازه‌گیری پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: میزان

پروتئین محلول کل طبق روش Bradford (۱۹۷۹) با استفاده از عصاره استخراج شده توسط بافر اندازه‌گیری شد و در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Cary 300) UV-Visible spectrophotometer قرائت گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸۴) در طول موج ۲۴۰ نانومتر، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز طبق روش Nakano و Asada (۱۹۷۸) در طول موج ۲۹۰ نانومتر، فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه بر حسب جذب در دقیقه (Abs/min) به وسیله دستگاه UV-Visible Spectrophotometer (Cary 300) ترسیم شد.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های حاصل از آزمایش با

نرم‌افزار SAS (Ver 9.1) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت، میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شد و نمودارهای لازم با نرم‌افزار Excel رسم

جدول ۲- مقایسه تنظیم اسمزی نه ژنوتیپ منتخب جو وحشی اسپانتانوم در دو سطح تنش خشکی ملایم و تنش خشکی شدید

ژنوتیپ ها	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
سطوح تنش									
تنش متوسط	۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۱۹	۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۱۴	۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۱۱
تنش شدید	۰/۱۸	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۰	۰/۱۲	۰/۰۲	۰/۱۵

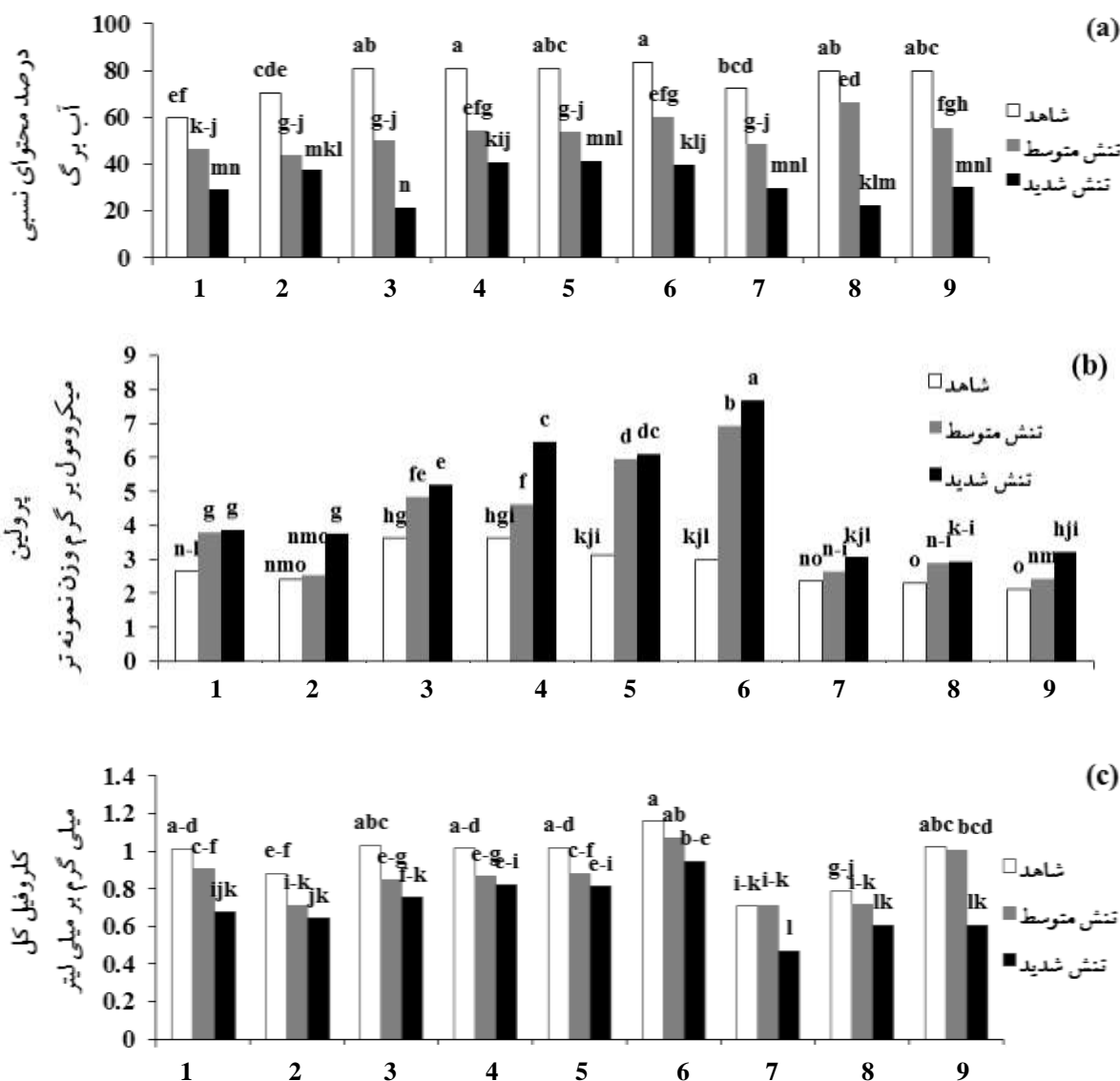
جدول ۳- مقایسه صفات مورد بررسی در سطوح تنش آبی و شاهد در نه ژنوتیپ منتخب جو اسپانتانوم در مزرعه

سطوح تنش	RWC (%)	هدایت روزنه‌ای (mmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	کلروفیل کل (mg.ml <sup>-1</sup> )	بیوماس (g.m <sup>-2</sup> )	عملکرد دانه (g.m <sup>-2</sup> )
شاهد	۷۶/۲ <sup>a</sup>	۳۶۱/۷ <sup>a</sup>	۰/۹ <sup>a</sup>	۳۹۸/۶ <sup>a</sup>	۱۰۰/۴ <sup>a</sup>
تنش متوسط	۵۳/۳ <sup>b</sup>	۹۷ <sup>b</sup>	۰/۸ <sup>b</sup>	۳۱۳/۳ <sup>b</sup>	۶۷/۶ <sup>b</sup>
تنش شدید	۳۱/۸ <sup>c</sup>	۶۶/۲ <sup>c</sup>	۰/۷ <sup>c</sup>	۲۵۹/۳ <sup>c</sup>	۵۱/۳ <sup>c</sup>

کاهش میزان RWC در شرایط تنش در اکثر مطالعات اشاره شده است اما به طور معمول، ژنوتیپ‌هایی که RWC بالاتری در شرایط تنش خشکی دارند، ژنوتیپ‌های متحمل‌تری خواهند بود (Pask et al., 2012; Eppel et al., 2013). همچنین Eppel و همکاران (۲۰۱۳) در ارقام جو گزارش کردند تنش خشکی آخر فصل، محتوای نسبی آب برگ و هدایت روزنه‌ای ارقام جو را به طور معنی‌دار کاهش داده است.

**تنظیم‌اسمزی و متابولیت‌های سازگار:** تنظیم‌اسمزی یکی از مولفه‌های اصلی فیزیولوژیکی در گیاهان در پاسخ به تنش-خشکی است (Niknam and Turner, 2003). تنظیم‌اسمزی در تیمار تنش شدید در تمامی ژنوتیپ‌های مورد بررسی به جزء ژنوتیپ‌های ۳ و ۸ پس از اعمال تنش روند افزایشی داشته و بین ژنوتیپ‌های ۵، ۴ و ۶ به ترتیب بالاترین تنظیم را نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر از خود نشان داد که می‌تواند نشان‌دهنده برتری این ژنوتیپ‌های در تحمل به تنش خشکی باشد (جدول ۴) (لازم به ذکر است که صفت تنظیم‌اسمزی از تفاضل تنظیم‌اسمزی در شرایط تنش و شاهد است در نتیجه تنها یک سری داده که مربوط به تنظیم‌اسمزی در شرایط تنش است مورد ارزیابی قرار گرفته میشود). افزایش مواد اسمزی به دو صورت، افزایش جذب مواد معدنی به ویژه پتاسیم و تجزیه ترکیب‌های بزرگ مانند نشاسته و یا سنتز ترکیبات آلی مانند

همه گیاهان به کمبود آب، بستن روزنه‌ها جهت کاهش اتلاف آب از طریق تعرق می‌باشد محتوای نسبی آب برگ میزان کمبود آب را نشان می‌دهد و ممکن است شاخصی برای نشان دادن شدت تنش خشکی باشد (Pask et al., 2012). در این بررسی اعمال تیمارهای قطع آبیاری سبب کاهش معنی‌دار (P<0.01) محتوای نسبی آب برگ و هدایت روزنه‌ای در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده). همچنین واکنش ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف خشکی اعمال شده از نظر RWC معنی‌دار (P<0.01) بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده) با توجه به اختلاف زیاد بین سطوح تنش تجزیه واریانس صفت هدایت روزنه‌ای به صورت جداگانه از روش برش‌دهی فیزیکی (Physical Slicing) صورت پذیرفت و نتایج نشان داد اختلاف ژنوتیپ‌ها در تنش متوسط (قطع آبیاری بعد از گلدهی) معنی‌دار (P<0.01) است (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده). با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها این صفت ژنوتیپ ۴، ۵ و ۶ با میزان ۱۹۲، ۱۸۲/۲ و ۱۷۹/۶ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه به صورت معنی‌داری دارای بیشترین هدایت روزنه‌ای بودند همچنین در بررسی میزان RWC نتایج بیانگر این موضوع است که ژنوتیپ ۶ در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش دارای محتوای رطوبت نسبی بیشتر است (جدول ۳، شکل ۱-۳). هر چند که



شکل ۱- بررسی صفات بیوماس، درصد محتوای نسبی رطوبت، میزان کلروفیل کل، پرولین در ژنوتیپ‌های منتخب جو وحشی در سطوح مختلف تنش خشکی

معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده). طبق نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ ۶ و پس از آن ژنوتیپ‌های ۴ و ۵ بیشترین میزان قند محلول و ژنوتیپ ۷ کمترین میزان را به خود اختصاص داده است (جدول ۵). ژنوتیپ‌های دیگر افزایش متوسطی در میزان کربوهیدرات‌های خود داشتند. با افزایش شدت تنش میزان غلظت قندهای محلول در ژنوتیپ متحمل به خشکی سریعاً افزایش یافت، که این امر می‌تواند نقش قندهای محلول را در تنظیم‌اسمزی در گیاه نشان دهد. می‌توان استدلال کرد که

برخی اسیدهای آمینه به ویژه پرولین امکان پذیر است. بنابراین در شرایط تنش به طور معمول غلظت قندها به خصوص گلوکز، پرولین افزایش می‌یابد و آنچه که مهم است و باید به آن توجه شود مقدار انرژی است که در ارتباط با این پدیده به جای بهبود رشد و افزایش عملکرد باید هزینه گردد.

نتایج بدست آمده نشان داد که اثر ژنوتیپ و تنش خشکی برای قندهای محلول کل و پرولین ( $P < 0.01$ ) معنی‌دار شد در حالیکه واکنش ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف خشکی اعمال شده برای قندهای محلول کل معنی‌دار نشد ولی در پرولین

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در سطوح تنش آبی و شاهد در نه ژنوتیپ منتخب جو اسپانتانوم در مزرعه

ژنوتیپ‌ها	RWC (%)	هدایت روزنه‌ای (mmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	کلروفیل کل (mg.ml <sup>-1</sup> )	تنظیم اسمزی (MPa)	بیوماس (g.m <sup>-2</sup> )	عملکرد دانه (g.m <sup>-2</sup> )
۱	۴۴/۷ <sup>e</sup>	۱۷۹/۳ <sup>c</sup>	۰/۸۶ <sup>b</sup>	۰/۱۰ <sup>d</sup>	۲۸۷/۳ <sup>d</sup>	۶۷/۲ <sup>c</sup>
۲	۵۱/۶ <sup>d</sup>	۱۶۶/۳ <sup>d</sup>	۰/۷۴ <sup>c</sup>	۰/۰۷ <sup>e</sup>	۲۸۶/۰۱ <sup>d</sup>	۶۷/۸ <sup>c</sup>
۳	۵۱/۳ <sup>d</sup>	۱۸۴/۲ <sup>bc</sup>	۰/۸۷ <sup>b</sup>	۰/۱۳ <sup>c</sup>	۲۸۶/۴ <sup>d</sup>	۶۶/۴ <sup>c</sup>
۴	۵۹/۹ <sup>a</sup>	۱۹۲/۴ <sup>a</sup>	۰/۹۰ <sup>b</sup>	۰/۲۰ <sup>a</sup>	۴۳۹/۵ <sup>a</sup>	۸۷/۷ <sup>b</sup>
۵	۵۳/۴ <sup>c</sup>	۱۸۷/۲ <sup>ab</sup>	۰/۹۰ <sup>b</sup>	۰/۱۴ <sup>c</sup>	۴۱۴/۴ <sup>b</sup>	۹۶/۱ <sup>ab</sup>
۶	۶۰/۷ <sup>a</sup>	۱۷۹/۶ <sup>c</sup>	۱/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۱۷ <sup>b</sup>	۳۴۰/۷ <sup>c</sup>	۱۰۱/۲ <sup>a</sup>
۷	۴۹/۹ <sup>d</sup>	۱۵۴/۸ <sup>e</sup>	۰/۶۲ <sup>d</sup>	۰/۱۰ <sup>d</sup>	۲۵۲/۷ <sup>e</sup>	۳۸/۷ <sup>d</sup>
۸	۵۷/۶ <sup>b</sup>	۱۷۶/۴ <sup>c</sup>	۰/۷۰ <sup>cd</sup>	۰/۰۲ <sup>f</sup>	۳۲۵/۶ <sup>c</sup>	۶۵/۱ <sup>c</sup>
۹	۵۴/۸ <sup>c</sup>	۱۵۴/۴ <sup>e</sup>	۰/۸۷ <sup>d</sup>	۰/۱۳ <sup>c</sup>	۲۹۱/۵ <sup>d</sup>	۶۱/۹ <sup>c</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

انطباق با شرایط خشک برای ژنوتیپ متحمل فراهم گردیده است.

**میزان کلروفیل کل و مالون دی‌آلدهید (MDA):** بررسی اثر تنش خشکی بر میزان کلروفیل کل و تغییرات (MDA) در طول دوره اعمال تنش نشان داد که اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) در هر سطح تنش خشکی و بین ژنوتیپ‌ها و اثر متقابل آنها وجود داشت (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده).

در این بررسی اعمال تیمارهای تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل کل شد (شکل ۱- c). با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین این صفت در تیمارهای مورد بررسی ژنوتیپ ۶، ۵، و ۴ به ترتیب با میزان ۱/۰۵، ۰/۹۰، و ۰/۹۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر به صورت معنی‌داری دارای بیشترین میزان کلروفیل کل بودند (جدول ۵). نتایج بدست آمده در ارتباط با کاهش کلروفیل تحت تنش توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Li et al., 2011). از جمله دلایلی که برای کاهش کلروفیل در شرایط تنش خشکی عنوان شده است می‌توان به تخریب غشاهای تیلوکوئید کلروپلاست و اکسیداسیون نوری کلروفیل اثر گونه‌های فعال اکسیژن (Reddy et al., 2004) و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز اشاره کرد (Ranjan et al., 2001). در این بررسی اعمال تیمارهای تنش خشکی بر صفت

انباشت قندهای محلول در شرایط تنش، علاوه بر نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی که از نظر تامین انرژی و جلوگیری از مرگ حتمی ایفا می‌کند، می‌تواند باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول شده و از طریق تنظیم اسمزی موجب بالاتر نگه داشتن میزان آب نسبی در ژنوتیپ متحمل به خشکی شده و به این ترتیب در سازوکار تحمل به خشکی نقش مهمی داشته باشند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان پرولین نیز نشان می‌دهد که این صفت پس از اعمال تنش روند افزایشی داشت (شکل ۱- b). نتایج نشان می‌دهد در بین ژنوتیپ‌ها ژنوتیپ ۶ نیز و پس از آن ژنوتیپ‌های ۵ و ۴ بیشترین غلظت اسید آمینه پرولین را دارا بودند به طوری که میزان آن پس از اعمال تنش شدید به ترتیب ۵/۸، ۵/۰۹ و ۴/۸ میکرومول بر گرم وزن تر بود، این در حالی است که ژنوتیپ ۹ با میزان ۲/۵ میکرومول بر گرم وزن تر کمترین میزان پرولین را دارا بود (جدول ۵). تجمع اسیدهای آمینه در بسیاری از مطالعات انجام شده بر روی گیاهان در معرض تنش غیرزنده مشاهده شده است (Lugan et al., 2010; Sánchez et al., 2008). می‌توان نتیجه گرفت که انباشت این ترکیبات نقش مؤثری در تنظیم اسمزی داشته و از طریق کاهش سمیت مواد، حفاظت سیستم غشایی سلول در مقابل تنش را فراهم ساخته است، در نتیجه قابلیت

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات ساده تیمار آبی و ژنوتیپ صفات مورد بررسی در نه ژنوتیپ منتخب جو اسپانانائوم در مزرعه

فقد محلول کل (mg.g <sup>-1</sup> DW)	پروئین (μmol.g <sup>-1</sup> FW)	آنزیم کاتالاز			آنزیم پراکسیداز			آنزیم پروتئین (mg.g <sup>-1</sup> Fw)	ملون دی آلدئید (nmol.ml <sup>-1</sup> )
		آنزیم کاتالاز	آنزیم آمکوریات پراکسیداز	آنزیم آمکوریات پراکسیداز	آنزیم پراکسیداز	آنزیم پروتئین			
		μM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dec. min <sup>-1</sup> . mg <sup>-1</sup> Pro	μM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dec. min <sup>-1</sup> . mg <sup>-1</sup> Pro	μM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dec. min <sup>-1</sup> . mg <sup>-1</sup> Pro	μM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dec. min <sup>-1</sup> . mg <sup>-1</sup> Pro	μM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dec. min <sup>-1</sup> . mg <sup>-1</sup> Pro	μM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dec. min <sup>-1</sup> . mg <sup>-1</sup> Pro		
۱۳۷/۰c	۷/۸۰c	۰/۱۷c	۰/۹۰c	۰/۴۹c	۱۹/۰a	۷/۷۷c		شامعد	
۱۷۶/۱b	۴/۰۷b	۰/۲۲b	۱/۱۰b	۰/۶۵b	۱۷/۴b	۳/۲۶b		تنش ملایم	
۲۱۷/۲a	۴/۸۰a	۰/۲۷a	۱/۲۹a	۰/۸۲a	۱۶/۳c	۳/۶۶a		تنش شدید	
ژنوتیپ‌ها									
۱۷۸/۳b	۳/۴e	۰/۲۲d	۱/۰۵d	۰/۴۱e	۱۷/۱c	۳/۲۷b		۱	
۱۶۶/۶bc	۲/۹f	۰/۲۱e	۰/۸۴E	۰/۳۹f	۱۸/۶b	۳/۳۲b		۲	
۱۷۸/۶b	۴/۵d	۰/۲۱e	۱/۰۱d	۰/۴۸d	۱۸/۴b	۳/۲۶b		۳	
۱۸۰/۴b	۴/۸c	۰/۲۵c	۱/۳۳c	۰/۷۴c	۱۶/۹c	۳/۱۰c		۴	
۱۸۰/۶b	۵/۱b	۰/۲۷b	۱/۴۷b	۱/۲۷b	۱۵/۷d	۲/۹۹d		۵	
۱۹۸/۸a	۵/۸a	۰/۳۴a	۱/۸۱a	۱/۵۲a	۱۴/۲e	۲/۹۱e		۶	
۱۵۹/۶c	۲/۶E	۰/۱۵E	۰/۷۴i	۰/۳۱h	۲۰/۲a	۳/۴۲a		۷	
۱۷۱/۶bc	۲/۷E	۰/۱۵E	۰/۷۷h	۰/۴۸d	۱۸/۶b	۳/۴۰a		۸	
۱۶۱/۴c	۲/۵h	۰/۲۰f	۰/۹۱f	۰/۳۶E	۱۸/۶b	۳/۴۰a		۹	

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دانته‌ای دلکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند



آنتی‌اکسیدان در واکنش به تنش خشکی افزایش می‌یابد. هرچند واکنش آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی متغیر بوده و می‌تواند افزایشی، کاهش‌ی یا بدون تغییر باشد (Sairam and Srivastava, 2001). نتایج این آزمایش روند افزایشی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش نشان داد (شکل ۲-۲، c-۲، d-۲)، پس از اعمال تنش ژنوتیپ‌های ۶ و ۵ بیشترین غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را دارا بودند (شکل ۲-۲، b، c-۲، d-۲، جدول ۵). در تحقیقات گذشته نیز افزایش کاتالاز را در گیاهان مختلف در تنش خشکی گزارش شده است (Yang and Miao, 2010 and Panda, 2008) همچنین در مطالعات گذشته نیز افزایش آسکوربات پراکسیداز در تنش خشکی را نیز گزارش کردند (Selote and Chopra, 2010).

گیاهان به منظور مقابله با خسارات گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش خشکی، نیاز به یک سیستم آنتی‌اکسیدان فعال دارند. بسیاری از مطالعات نشان داده است که یک سیستم آنتی‌اکسیداتیو کارآمد به همراه افزایش قندهای محلول، و تجمع پرولین در گیاه می‌تواند نقش مهمی در تحمل به خشکی ایفا کند (Li et al., 2006).

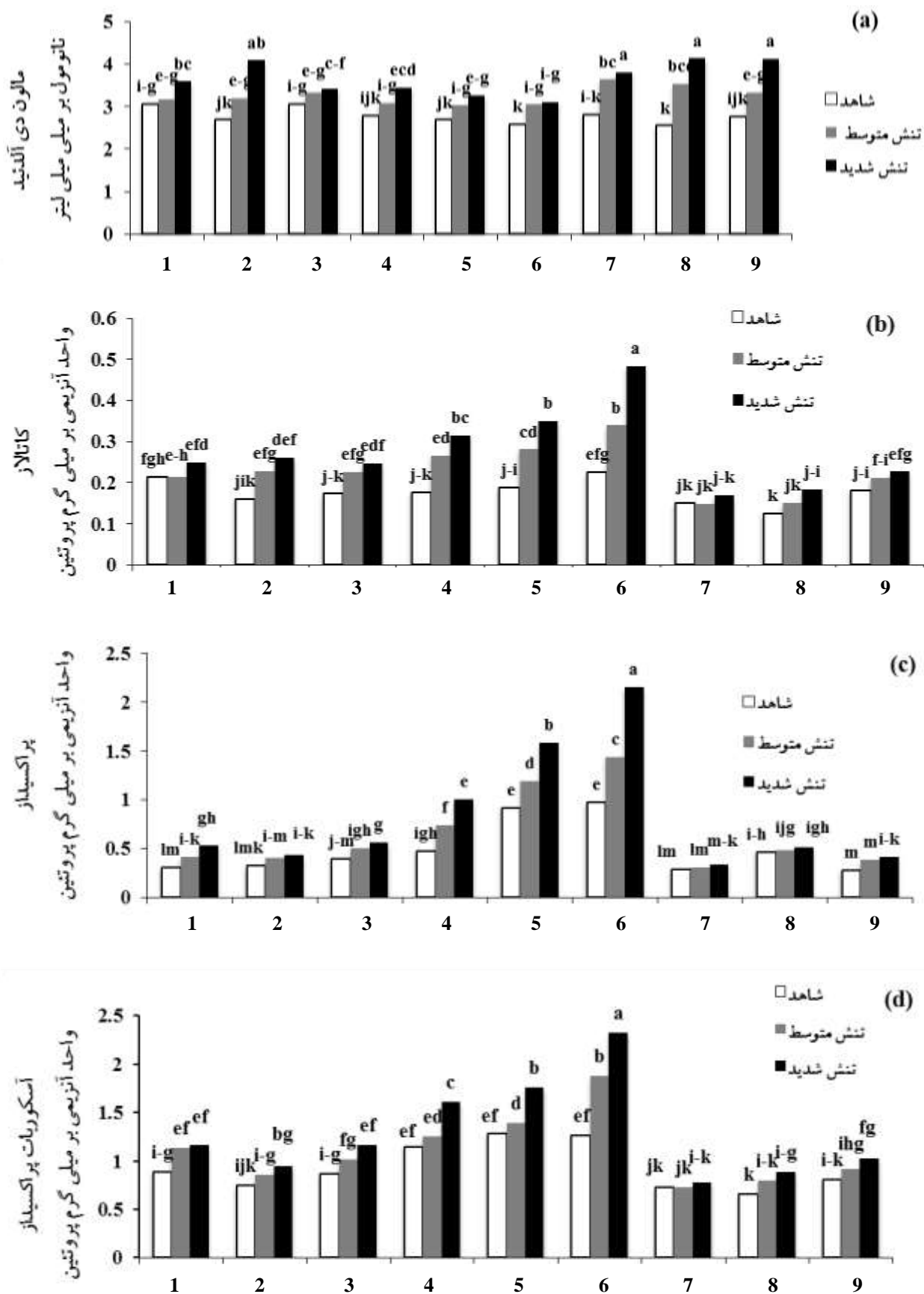
#### بررسی همبستگی بیوماس و عملکرد دانه با صفات

**فیزیولوژی و بیوشیمیایی:** به منظور بررسی ارتباط صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژی باهم و با بیوماس و عملکرد دانه ضرایب همبستگی ساده (پیرسون) انجام شد (جدول همبستگی ارائه نشده است). با توجه به نتایج، عملکرد دانه و بیوماس همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) با صفات محتوای نسبی آب برگ ( $r = 0.40$ )، میزان کلروفیل کل ( $r = 0.31$ )، هدایت روزنه‌ای برگ ( $r = 0.51$ ) و با نشان داد. همچنین بین محتوای نسبی آب برگ و هدایت روزنه‌ای همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) دیده شد که بیانگر این است که گیاه با باز نگه داشتن روزنه، خنک نگه داشتن برگ و افزایش تبادلات گازی باعث افزایش کارایی فتوسنتز نهایتاً موجب عملکرد بالاتر شده است (Reynolds and Tuberosa, 2008) نتایج این تحقیق با یافته‌های زارعی (۱۳۸۸) و علیپور (۱۳۸۶) مطابقت نشان داد. همچنین در بررسی نتایج همبستگی صفات

MDA نتایج نشان داد که در بین ژنوتیپ‌ها با افزایش سطح تنش میزان MDA افزایش داشته که ژنوتیپ ۸ با  $4/13$  نانومول بر میلی‌لیتر از نظر مالون دی‌آلدهید بیشترین میزان را در شرایط تنش شدید داشت و همچنین ژنوتیپ ۶ با  $3/58$  نانومول بر میلی‌لیتر کمترین میزان را در شرایط تنش شدید داشت که ژنوتیپ ۸ نسبت به شرایط شاهد  $38$  درصد و ژنوتیپ ۶،  $17$  درصد افزایش رو از خود نشان دادند (شکل ۲-۲، جدول ۵). افزایش متوسط MDA در تنش متوسط نشان دهنده وقوع استرس اکسیداتیو متوسط است. در مقابل، تحت شرایط تنش شدید، میزان MDA افزایش معنی‌داری را بخصوص در ارقام حساس نشان داد، که نشان‌دهنده کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و این نتیجه می‌تواند نشان دهنده آن باشد که تحت شرایط تنش متوسط، رادیکال‌ها به طور مؤثر توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی هضم می‌شوند و در دوره‌هایی از استرس شدیدتر، سیستم هضم کننده با افزایش سرعت ولی در رادیکال‌ها اشباع شده و در نتیجه به سلول آسیب می‌رسد. محققان زیادی افزایش مالون دی‌آلدهید را در گیاهان مختلف در تنش خشکی گزارش کرده‌اند از جمله: Anjum و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه تنش خشکی در سویا و Ahmed و همکاران (۲۰۱۳) در جو.

#### پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: بررسی تغییرات آنزیم

های آنتی‌اکسیدانی و پروتئین در طول دوره اعمال تنش خشکی نشان داد که اثر خشکی اثر ژنوتیپ و واکنش ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف خشکی اعمال شده بر این صفات معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده). بررسی‌ها نشان داده است که پاسخ محتوای پروتئین برگ به تنش و خشکی متغیر بوده و می‌تواند افزایشی، کاهش‌ی یا بدون تغییر باشد. که در این تحقیق تمامی ژنوتیپ‌ها پس از اعمال تنش روند کاهش را نشان دادند (جدول ۵۱). کاهش چشمگیر غلظت پروتئین محلول برگ در شرایط تنش خشکی شدید کاملاً محسوس است که این امر می‌تواند به کاهش زیر واحدهای روبیسکو و افزایش در اکسیداسیون پروتئین مرتبط می‌باشد (Tahkokorpi, 2010). فعالیت بسیاری از آنزیم‌های



شکل ۲- بررسی صفات مالون دی آلدئید و آنزیم های آنتی اکسیدانی در ژنوتیپ های منتخب جو وحشی در سطوح مختلف تنش خشکی

فیزیولوژیکی نشان داد که گیاه در شرایط تنش با کاهش پتانسیل اسمزی و افزایش قدرت جذب آب، محتوای نسبی آب برگ را در سطح بالا نگه داشته است. در شرایطی که محتوای آبی برگ پایین باشد، سلول‌ها به آماس کامل نمی‌رسند و در نتیجه اختلال در سیستم آنزیمی گیاه و به تبع آن کاهش فتوسنتز اتفاق می‌افتد (Reynolds and Tuberosa, 2008).

مطالعه همبستگی صفات نشان داد که عملکرد دانه با میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز ( $r=0/35$ )، آنزیم پراکسیداز ( $0/29$ ) ( $r=$ ) و آنزیم کاتالاز ( $r=0/29$ ) همبستگی مثبت معنی‌دار و با میزان مالون دی‌آلدهید ( $r=-0/47$ ) همبستگی منفی معنی‌داری ( $P<0.01$ ) داشت که نشان دهنده کاهش عملکرد دانه در صورت تخریب گیاه ناشی از تنش خشکی است. به طور کلی می‌توان این گونه نتیجه‌گیری کرد که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های متحمل بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس بود در نتیجه توسط این مکانیسم به خوبی با رادیکال‌های اکسیژن آزاد تولید شده در اثر تنش خشکی مقابله کردند و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و متعاقباً میزان مالون دی‌آلدهید نسبت به ژنوتیپ‌های حساس به مراتب کمتر بود که احتمالاً می‌تواند توجیه‌کننده کاهش کمتر عملکرد دانه در شرایط تنش نسبت به ژنوتیپ‌های حساس باشد. همچنین در بین صفات تنظیم‌اسمزی همبستگی بالا مثبت و معنی‌داری ( $P<0.01$ ) با پرولین ( $r=0/52$ ) و قند محلول کل ( $r=0/54$ ).

**تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی:** نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای شرایط تنش - خشکی ملایم و شدید نشان داد که صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارزیابی شده، در قالب دو مؤلفه اصلی مشتمل بر ۸۴/۹۲ درصد از تغییرات، قابل بیان می‌باشند (جدول ۶).

نمودار بای‌پلات براساس دو مؤلفه اصلی اول ترسیم گردید (شکل ۳). براین اساس، ژنوتیپ‌ها به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل ژنوتیپ ۶ بود. این ژنوتیپ بیشترین مقدار عددی مؤلفه اصلی را داشت. با توجه به اینکه در این مؤلفه اصلی، صفات عملکرد دانه، بیوماس، فعالیت آنزیم‌های آنتی-

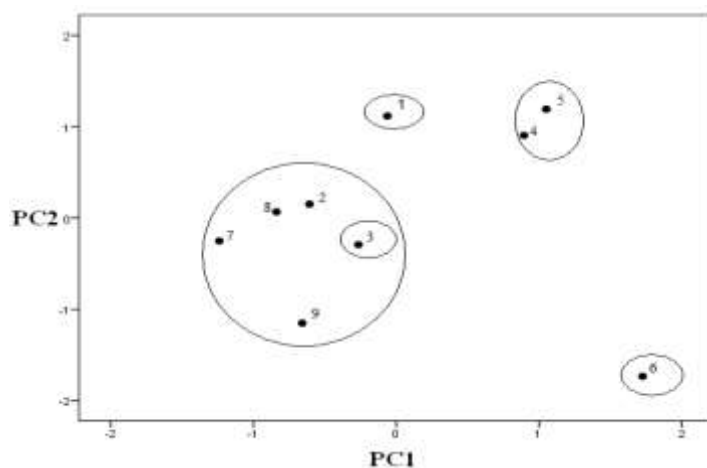
اکسیدانی، تنظیم‌اسمزی و اسمولیت‌هایی مانند پرولین و قندهای محلول دارای ضریب مثبت بزرگ و صفات مالون دی-آلدهید و پراکسیداسیون لیپید دارای ضریب منفی کوچک بودند، این ژنوتیپ به عنوان نمونه متحمل با عملکرد بالاتر و صفات مطلوب در شرایط تنش خشکی شناسایی شد. گروه دوم ژنوتیپ‌های ۵ و ۴ در برداشت. این ژنوتیپ‌ها دارای مقادیر بالا از لحاظ هر دو مؤلفه اصلی اول و دوم بودند، لذا این ژنوتیپ‌ها نیز به عنوان نمونه‌های متحمل شناسایی شدند. براساس این نتایج، سه ژنوتیپ ۶، ۵ و ۴ به عنوان ژنوتیپ‌های برتر متحمل به تنش خشکی در این تحقیق، مشخص گردیدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر و مالون دی‌آلدهید کمتر (شکل ۲) در ژنوتیپ ۶ سبب شده است که این ژنوتیپ در گروه مجزایی از دو ژنوتیپ ۴ و ۵ قرار گیرد.

گروه سوم شامل ژنوتیپ ۱ می‌باشد. این ژنوتیپ از لحاظ مؤلفه اصلی اول مقدار نزدیک به صفر داشت. به عبارت دیگر ژنوتیپ ۱ از لحاظ صفات عملکردی (عملکرد دانه و بیوماس) از وضعیت متوسطی برخوردار بود. اما این ژنوتیپ از لحاظ مؤلفه اصلی دوم دارای مقدار بالایی بود. این خصوصیت سبب شد که ژنوتیپ ۱ در نمودار بای‌پلات مؤلفه‌های اصلی در گروه متمایزی قرار گیرد. این ژنوتیپ دارای پائین‌ترین میزان شاخص تحمل (Tolerance Index) بود، به عبارتی کاهش عملکرد در این ژنوتیپ نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها از میزان کمتری برخوردار بود، هرچند که عملکرد بالقوه در این ژنوتیپ بالا نبود (اطلاعات منتشر نشده). همچنین ژنوتیپ ۱ دارای تنظیم‌اسمزی مطلوب و مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیمی متوسط بود (شکل ۲). لذا می‌توان نتیجه گرفت که این ژنوتیپ از لحاظ صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی در وضعیت متوسطی بود و از اینرو به عنوان ژنوتیپ نیمه متحمل قابل شناسایی می‌باشد.

ژنوتیپ‌های گروه چهارم دارای مقادیر کمتری از لحاظ هر دو مؤلفه اصلی بودند و به عنوان ژنوتیپ‌های حساس شناسایی می‌شوند. ژنوتیپ‌های ۸، ۹، ۷ و ۲ بطور مشخص دارای سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانی پائین‌تر و مالون دی‌آلدهید بالاتر بودند.

جدول ۶- نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در نه ژنوتیپ منتخب جو وحشی اسپانتانوم تحت تنش خشکی ملایم و شدید

مؤلفه اصلی		صفت
اول	دوم	
۰/۹۱	۰/۳۳	عملکرد دانه
۰/۷۴	۰/۵۶	بیوماس
-۰/۹۳	-۰/۱۳	مالون دی‌آلدهید
-۰/۹۵	۰/۱۱	پروتئین
۰/۹۳	-۰/۱۸	پراکسیداز
۰/۹۸	-۰/۱۸	آسکوربات پراکسیداز
۰/۹۵	-۰/۲۱	کاتالاز
۰/۹۵	-۰/۰۷	پرولین
۰/۴۸	-۰/۳۰	قند محلول کل
۰/۶۴	۰/۷۳	محتوای نسبی آب برگ
۰/۶۴	۰/۷۳	هدایت روزنه‌ای
۰/۹۱	-۰/۲۶	میزان کلروفیل کل
۰/۷۳	-۰/۰۷	تنظیم اسمزی
۷۵/۷	۸۴/۹	درصد تغییرات تجمعی



شکل ۳- نمودار بای پلات مبتنی بر مؤلفه‌های اصلی برای صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در نه ژنوتیپ منتخب جو وحشی اسپانتانوم تحت تنش خشکی ملایم و شدید

ژنوتیپ ۳ نسبت به سایر ژنوتیپ‌های این گروه هدایت روزنه‌ای پائین‌تری داشت و از این رو به عنوان یک زیر گروه مجزا قابل تمایز می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری کلی:

نتایج این بررسی نشان داد ژنوتیپ‌های ۴،۵ و ۶ در هر دو شرایط تنش و در شرایط شاهد از آب به صورت مقتصدانه

ماده خشک در این ژنوتیپ‌ها می‌باشد. در مقابل ژنوتیپ‌های ۸، ۹، ۷ و ۲ بطور مشخص دارای سطح فعالیت آنتی اکسیدانی پائین‌تر و مالون دی‌آلدهید بالاتر بودند. براساس نتایج بدست آمده در مورد عملکرد دانه، بیوماس و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی، ژنوتیپ‌ها از نظر تحمل به خشکی در ۴ دسته متحمل تا حساس تقسیم بندی شدند.

#### سپاسگزاری:

بدین وسیله از پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران و به ویژه بخش تحقیقات فیزیولوژی مولکولی به دلیل فراهم آوردن امکانات مورد نیاز تشکر و قدردانی می‌گردد.

مرتبط با تحمل به خشکی لاین‌های امید بخش گندم زمستانه در تاریخ‌های مختلف کاشت. پایان نامه کارشناسی ارشد. رشته زراعت. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

Aebi, H. E. (1984) Catalase in *vitro*. Method in Enzymology 105: 121-126.

Ahmed, I. M. H., Dai, W., Zheng, F., Cao, G., Zhang, D. and Sun, F. Wu. (2013) Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley. Plant Physiology and Biochemistry, 63: 49-60.

Anjum, S. A., Wang, L., Farooq, M. and Khan and L. Xue, I. (2011) Methyl Jasmonate-Induced Alteration in Lipid Peroxidation. Journal of Agronomy and Crop Science, 197: 296-301.

Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15.

Ashraf, M. (2009) Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology Advances, 27: 84-93.

Ashraf, M. (2010) Inducing drought tolerance in plants: Recent advances. Biotechnol. Advance 28: 169-183.

Bartels, D. and Sunkar, R. (2005) Drought and salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences, 24: 23-58.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive for

استفاده می‌کنند و این موضوع با محتوای نسبی آب بیشتر و هدایت روزنه‌ای پایین در هر دو شرایط تنش و بدون تنش قابل مشاهده است. همچنین این ژنوتیپ‌ها پتانسیل اسمزی پایین و محتوای پرولین بالاتر و در نهایت از مکانیسم تنظیم اسمزی مطلوبی برخوردارند. از آنجایی که ژنوتیپ‌های ۴ و ۵ افزایش چشمگیری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از خود نشان دادند لذا این احتمال وجود دارد که در این ژنوتیپ‌ها، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در مهار اکسیژن‌های فعال نقش مهمی ایفا کرده است. محتوای کلروفیل بالاتر به ویژه در دو ژنوتیپ نیز بیانگر حفظ بهتر ساختار سلول، عملکرد مطلوب فتوسنتز و در نهایت تولید

#### منابع:

ابوالحسنی زراعتکار، م.، لکزبان، ا.، غلامحسین پور جعفری، ا. و اخگر، ع. ر. (۱۳۸۹) تأثیر تنش خشکی بر سیستم تثبیت نیتروژن باکتری *Sinorhizobium* و انباشت متابولیت‌های سازگار در گیاه یونجه (*Medicago sativa* sp.) رقم بمی. مجله آب و خاک ۲۴ (۳) صفحات ۴۰۷-۴۱۶.

زارعی، س. (۱۳۸۸) ارزیابی و بررسی تنوع ژنتیکی صفات زراعی و مرفو- فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به تنش خشکی در گندم‌های بومی ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد. رشته اصلاح نباتات. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.

زهرای، م. (۱۳۸۸) ارزیابی ژنوتیپ‌های جواسپانتانوم (*Hordeum spontaneum*) از نظر شاخص‌های تحمل به خشکی مجله به نژادی نهال و بذر ۱-۲۵ صفحات ۵۴۹-۵۳۳.

زهرای، م.، تقی نژاد، ا.، افضل‌فر، ا.، بی همتا، م.، مظفری، ج وشفاء‌الدین، س. (۱۳۹۰) ارزیابی تنوع ژنتیکی صفات آگرومورفولوژیکی در ژرم‌پلاسما جو اسپانتانوم ایران. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱-۱۹ صفحات ۷۰-۵۵.

علیپور، م. (۱۳۸۶) مطالعه برخی صفات نموی و فیزیولوژیکی

- is a key response to osmotic stress in this halophyte. *The Plant Journal*, 64: 215–229.
- Munne-Bosch, S., and Penuelas, J. (2003) Photo and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in field-grown *Phillyrea angustifolia* plants. *Planta*, 217: 758–766.
- Munns, R., James, R. A. and Lauchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57: 1025-1043.
- Nevo, E. and Chen, G. (2010) Drought and salt tolerances in wild relatives for wheat and barley improvement. *Plant, Cell and Environment*, 33: 670–685.
- Niknam S. R, Ma, Q. and Turner D. (2003) Osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *B. juncea* genotypes in a water-limited environment in south-western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 43: 1127-1135
- Pask, A. J. D., Pietragalla, J., Mullan, D. M. and Reynolds (eds.), M.P. (2012) *Physiological Breeding II: A Field Guide to Wheat Phenotyping*. International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), pp. 133.
- 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.
- Ranjan, R., Bohra, S. P. and Jeet, A. M. (2001) *Book of plant senescence*. Jodhpur, Agrobios New York pp 18- 42.
- Reddy, T. Y., Reddy, V. R. and Anbumozhi. V. (2003) Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogea* L.) to drought stress and its amelioration: a critical review. *Plant Growth Regulation*, 41: 75-88.
- Reynolds, M. and Tuberosa, R. (2008) Translation research impacting on crop productivity in drought prone environments. *Current Opinion in Plant Biology*, 11: 171-179.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2001) Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186: 63-70.
- Sánchez, D. H., Siahpoosh, M. R., Roessner, U., Udvardi, M. and Kopka, J. (2008) Plant metabolomics reveals conserved and divergent metabolic responses to salinity. *Physiologia Plantarum*, 132: 209–219.
- Selote, D. S. and Chopra, R. K. (2010) Antioxidant response of wheat roots to drought acclimation. *Protoplasma*, 245: 153-163
- 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.
- the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Ceccarelli, S. (2010) Drought and drought resistance. *Encyclopedia of biotechnology in agriculture and Food 1*: 205–207.
- Chance, B., and Maehly, A. (1955) Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymology 2*: 764-817.
- Chimenti, C. A., Marcantonio, M. and Hall, A.J. (2006) Divergent selection for osmotic adjustment results in improved drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) in both early growth and flowering phases. *Field Crops Research*, 95: 305–315.
- Eppel, A., Keren, N., Salomon, E., Volis, S. and Rachmilevitch, S. (2013) The response of *Hordeum spontaneum* desert ecotype to drought and excessive light intensity is characterized by induction of O<sub>2</sub> dependent photochemical activity and anthocyanin accumulation. *Plant Science*, 201–202: 74–80.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 909-930.
- Guo, X. Y., Zhang, X.S. and Huang, Z.Y. (2010) Drought tolerance in three hybrid poplar clones submitted to different watering regimes. *Journal of Plant Ecology*, 3: 79–87.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry*, 125:189-198.
- Kaplan, F. and Guy, C. L. (2004) Beta-Amylase induction and the protective role of maltose during temperature shock. *Plant Physiology*, 135: 1674–1684.
- Khazaie, H. R. and Borzooei, A. (2006) Effects of water stress on antioxidant activity and physiological characteristics of wheat. *The First International Conference on the Theory and Practices in Biological Water Saving (ICTPB)*, Beijing China.
- Li, F., Bao, W. and Wu, N. (2011) Morphological, anatomical and physiological responses of *Campylotropis polyantha* (Franch.) Schindl. seedlings to progressive water stress. *Scientia Horticulturae*, 127: 436 443.
- Li, Y., Lee, K. K., Walsh, S., Smith, C., Hadingham, S., Sorefan, K., Cawley, G. and Bevan, M.W. (2006) Establishing glucose- and ABA-regulated transcription networks in *Arabidopsis* by microarray analysis and promoter classification using a Relevance Vector Machine. *Genome Research*, 16: 414–427.
- Lugan, R., Niogret, M. F., Leport, L., Guegan, J. P., Larher, F. R., Savoure, A., Kopka, J. and Bouchereau, A. (2010) Metabolome and water homeostasis analysis of *Thellungiella salsuginea* suggests that dehydration tolerance

- Yan, J., Wang, F., Qin, H., Chen, G., Eviatar, N., Fahima, T. and Cheng, J. (2011) Natural Variation In Grain Selenium Concentration Of Wild Barley, *Hordeum Spontaneum*, Populations from Israel. *Biological Trace Element Research*, 142: 773–786.
- Yang, F. and Miao, L. F. (2010) Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. *Silva Fennica*, 44: 23–37.
- Tahkokorpi, M. (2010) Anthocyanins under drought and drought-related stresses in blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.). Faculty of Science, Department of Biology, University of Oulu, Finland. 46 p
- Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., and Zhu J. K. (2006) Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant Journal*, 45:523–539.